

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**E.A.P. DE MEDICINA**

*"Efecto hipocolesterolémico de extracto hidroalcohólico de  
Capsicum baccatum en un modelo experimental de  
hipercolesterolemia en ratas."*

**TESIS**

**Para optar el Título Profesional de Médico Cirujano**

**AUTOR**

**Leandro Martinez Ghuber Jhinés**

**ASESORES**

**Silvia Suarez Cunza**

**Lima – Perú**

**2015**

***A mi esposa Yeni, nuestra hija Melian,  
mi madre Andrea y mi hermano Jyeffererson.***

Se agradece especialmente por su contribución a la profesora Silvia Suarez, sin cuya experiencia no habría sido posible la realización de este trabajo; a los profesores Jorge Arroyo y César Fuertes, por su apoyo; a los miembros del jurado examinador; y a todos quienes de forma directa e indirecta ayudaron a llevar a cabo este proyecto.

# Índice

---

	Página
<b>Resumen</b> .....	<b>7</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>8</b>
<b>Introducción</b> .....	<b>9</b>
<b>Enunciado del problema</b> .....	<b>18</b>
<b>Hipótesis</b> .....	<b>18</b>
<b>Objetivos</b> .....	<b>18</b>
Objetivo general .....	<b>19</b>
Objetivos específicos .....	<b>19</b>
<b>Material y métodos</b> .....	<b>19</b>
Material .....	<b>19</b>
Material biológico .....	19
Material fitoquímico .....	19
Instrumental y equipos .....	19
Métodos .....	<b>19</b>
Tipo de investigación .....	19
Población y muestra .....	20
Extracto de <i>Capsicum baccatum</i> .....	20
Animales .....	21
Preparación y administración de las dietas .....	22
Sacrificio de animales y toma de muestras .....	25
Análisis bioquímico .....	25
Análisis estadístico .....	28
<b>Resultados</b> .....	<b>30</b>
<b>Discusión</b> .....	<b>53</b>
<b>Conclusiones</b> .....	<b>66</b>
<b>Recomendaciones</b> .....	<b>67</b>
<b>Referencias bibliográficas</b> .....	<b>68</b>
<b>Anexos</b> .....	<b>81</b>

---

## Índice de tablas y figuras

Tabla 1. Composición de la dieta estándar para mantenimiento de las ratas.....	23
Tabla 2. Composición de la dieta modificada alta en colesterol .....	23
Tabla 3. Distribución por grupos de los animales de experimentación.....	24
Tabla 4. Variación del peso corporal, ingesta de alimentos y excreción fecal .....	31
Tabla 5. Análisis descriptivo de la variación en el peso corporal .....	32
Figura 1. Comparación de las medias de variación de peso entre grupos .....	33
Tabla 6. Análisis descriptivo de la ingesta de alimentos .....	34
Tabla 7. Análisis descriptivo de la excreción fecal .....	35
Figura 2. Comparación de las medias de excreción fecal entre grupos .....	36
Tabla 8. Perfil lipídico sérico en ratas Sprague-Dawley .....	37
Tabla 9. Análisis descriptivo del colesterol total .....	38
Figura 3. Comparación de las medias de colesterol total entre grupos .....	39
Tabla 10. Análisis descriptivo del colesterol HDL .....	40
Figura 4. Comparación de las medias de colesterol HDL entre grupos.....	41
Tabla 11. Análisis descriptivo del colesterol LDL .....	42
Figura 5. Comparación de las medias de colesterol LDL entre grupos .....	43
Tabla 12. Análisis descriptivo de triglicéridos .....	44
Figura 6. Comparación de las medias de triglicéridos entre grupos .....	45
Tabla 13. Análisis descriptivo del índice de aterogenicidad .....	46
Figura 7. Comparación de las medias del índice de aterogenicidad entre grupos .....	47
Tabla 14. Pruebas de capacidad antioxidante sérica .....	48
Tabla 15. Análisis descriptivo de FRAP.....	49
Figura 8. Comparación de las medias de capacidad antioxidante mediante FRAP entre grupos .....	50
Tabla 16. Análisis descriptivo de ABTS .....	51
Tabla 17. Resumen de variables y análisis de varianza (ANOVA) .....	52
Figura 9. Constancia de identificación de las muestras de <i>Capsicum baccatum</i> .....	81
Figura 10. Constancia de autorización de importación de las dietas experimentales.....	82
Figura 11. Proceso de filtración de la muestra (1).....	83
Figura 12. Proceso de filtración de la muestra (2).....	83
Figura 13. Extracto seco de <i>Capsicum baccatum</i> L. ....	84
Figura 14. Raspado del extracto seco de <i>Capsicum baccatum</i> L.....	84

Figura 15. Heces bien formadas de las ratas del grupo control.....	85
Figura 16. Heces semilíquidas de las ratas de los grupos con dieta hipercolesterolémica.....	85
Figura 17. Escala de heces de Bristol.....	86
Figura 18. Rata con un proceso infeccioso respiratorio.....	86
Figura 19. Comparación de las medias de ingesta de alimentos entre grupos .....	87
Figura 20. Comparación de las medias de capacidad antioxidante mediante ABTS entre grupos .....	88
Tabla 18. Operacionalización de la variable “efecto hipocolesterolémico” .....	89
Tabla 19. Operacionalización de las variables .....	90

---

## **RESUMEN**

Título: Efecto hipocolesterolémico de extracto hidroalcohólico de *Capsicum baccatum* en un modelo experimental de hipercolesterolemia en ratas. Introducción: el ají amarillo, *Capsicum baccatum*, es un fruto originario de Perú y Bolivia, y es utilizado como alimento. Se ha incrementado el interés debido a su contenido fenólico, flavonoide, capsaicinoide, carotenoide, que exhiben propiedades antiinflamatorias y antioxidantes, por lo que podría disminuir el riesgo de enfermedades cardiovasculares. Objetivo: demostrar el efecto hipocolesterolémico de extracto hidroalcohólico de *Capsicum baccatum* en un modelo experimental de hipercolesterolemia inducida por dieta en ratas. Diseño: experimental. Institución: Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición. Facultad de Medicina, UNMSM, Perú. Material biológico: *Capsicum baccatum*, ratas Sprague-Dawley. Intervenciones: Los animales fueron asignados a seis grupos de 5 ratas cada uno: control (C), hipercolesterolemia (HC), atorvastatina 10 mg/kg (A), extracto de *Capsicum baccatum* 50 mg/kg (EC1), extracto de *Capsicum baccatum* 200 mg/kg (EC2) y extracto de *Capsicum baccatum* 350 mg/kg (EC3). El estudio duró 21 días, y al término se extrajeron las muestras sanguíneas. Principales medidas de resultados: colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, triglicéridos, capacidad antioxidante FRAP, capacidad antioxidante ABTS. Resultados: El extracto hidroalcohólico de *Capsicum baccatum* 350 mg/kg produjo una reducción significativa ( $p<0,05$ ) del colesterol total, colesterol LDL e índice de aterogenicidad en relación al grupo EC1. La capacidad antioxidante sérica fue significativamente mayor ( $p<0,05$ ) en las ratas que recibieron el extracto en comparación al grupo control. Conclusiones: El extracto hidroalcohólico de *Capsicum baccatum* a dosis 350 mg/kg tuvo efecto hipocolesterolémico en relación al grupo HC y al grupo EC1, pero solo alcanzó diferencias significativas con éste último.

Palabras clave: *Capsicum*, hipercolesterolemia, dieta alta en grasa, colesterol, triglicéridos, ratas Sprague-Dawley, atorvastatina, antioxidante.

## **ABSTRACT**

Title: Hypocholesterolemic effect of the hydroalcoholic extract of *Capsicum baccatum* in an experimental model of hypercholesterolemia in rats. Background: the *ají amarillo*, *Capsicum baccatum*, is a native fruit to Peru and Bolivia and is used as food. Has been increased interest due to its phenolic content, flavonoid, capsaicinoid, carotenoid, which exhibit anti-inflammatory and antioxidant properties, potentially decreasing the risk of cardiovascular disease. Objective: To determine the hypocholesterolemic effect of hydroalcoholic extract of *Capsicum baccatum* in an experimental model of diet-induced hypercholesterolemia in rats. Design: experimental. Setting: Biochemistry and Nutrition Research Center, Faculty of Medicine, UNMSM, Peru. Biologic material: *Capsicum baccatum*, Sprague-Dawley rats. Interventions: The animals were assigned to six groups of 5 rats each: control (C), hypercholesterolemia (HC), atorvastatin 10 mg / kg (A), extract of *Capsicum baccatum* 50 mg / kg (EC1), extract of *Capsicum baccatum* 200 mg / kg (EC2) and extract of *Capsicum baccatum* 350 mg / kg (EC3). The study lasted 21 days, and at the end blood samples were drawn. Main outcome measures: total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, triglycerides, antioxidant activity by FRAP, antioxidant activity by ABTS. Results: The hydroalcoholic extract of *Capsicum baccatum* 350 mg/kg produced a significant decrease ( $p < 0.05$ ) in total cholesterol, LDL cholesterol and atherogenic index in relation to the EC1 group. The serum antioxidant activity was significantly higher ( $p < 0.05$ ) in rats that received the extract compared to control animals. Conclusions: The hydroalcoholic extract of *Capsicum baccatum* dose 350 mg/kg had a hypocholesterolemic effect in relation to HC group and EC1 group, but only reach statistical significance with the latter group.

Key words: *Capsicum*, hypercholesterolemia, diet high-fat, cholesterol, triglycerides, rats Sprague-Dawley, atorvastatin, antioxidant.



## INTRODUCCIÓN

En la literatura se ha reportado desde hace varias décadas la importancia de los niveles de colesterol y de lipoproteínas en relación a patologías como aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares, tal como reseña Castelli *et al* en el estudio Framingham. (1)

Diversos estudios muestran que *Capsicum annum* eleva los niveles de colesterol HDL (lipoproteína de alta densidad o *high density lipoprotein*) (2) (3), y disminuye los niveles de colesterol total, triglicéridos y colesterol LDL (lipoproteína de baja densidad o *low density lipoprotein*) en roedores (4), de modo que se le reconoce su propiedad hipocolesterolémica. En tanto que otra especie existente del género *Capsicum*, la variedad *baccatum*, tiene componentes similares que la especie *annum* (5) (6) (7) (8), sin embargo no existía información acerca de su actividad frente a un estado de hipercolesterolemia.

Por consiguiente, existía un vacío de conocimiento y fue razonable investigar si la variedad *Capsicum baccatum* ejercía efecto hipocolesterolémico en un modelo animal de hipercolesterolemia en ratas Sprague-Dawley, lo que permita contribuir con esta deficiencia de información.

Los resultados beneficiarían a la comunidad científica dado que permite esclarecer si *Capsicum baccatum* tiene propiedades hipocolesterolémicas en animales de experimentación al igual que su pariente *Capsicum annum*, de tal forma que se puedan llevar a cabo posteriores investigaciones en seres humanos, que finalmente permitan incluir este género como parte del tratamiento alternativo contra la hipercolesterolemia en la atención primaria de salud.

Esta aplicación tendría impacto positivo para la sociedad, especialmente para la población de menor acceso a tratamientos, teniendo en cuenta además, que entre el 40 y 80 por ciento de la población hace uso de la medicina tradicional. (9) Así mismo, aportaría una nueva estrategia fitoterapéutica hipocolesterolémica obtenida bajo rigor científico.

Igualmente el estudio tiene justificación desde el aspecto socio-económico para toda la cadena productiva pues la especie *Capsicum baccatum* tiene importancia en la economía peruana. (10)

La investigación del problema fue conveniente porque a la fecha no se encuentra información de ensayos *in vivo*, en la base de datos Pubmed, con las palabras clave *Capsicum baccatum*, *rats or rat*, *cholesterol*, con respecto al efecto hipocolesterolémico de la especie *Capsicum baccatum*. (11) Asimismo no se encontraron publicaciones nacionales en el catálogo del Sistema de Bibliotecas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM)(12), ni en la base de datos de la Biblioteca Central de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH)(13), lo que hizo relevante este estudio.

En la actualidad se sabe que la enfermedad cardiovascular (ECV) representa la principal causa de mortalidad con un 11,2% de todas las muertes en el mundo y reduce en 10% los años de vida saludable afectando a alrededor de 7,4 millones de personas de la población mundial en el año 2012, además se agregan 6,7 millones por infarto cerebral. (14) (15) (16) Asimismo, en el año 2006 sus costos calculados, directos e indirectos, fueron de 142 mil millones de dólares. (17) En el Reino Unido, la enfermedad cardiovascular es el origen de una de cuatro muertes en hombres y una de cinco en mujeres y es la causa más común de muerte prematura, 28% en hombres y 17% en mujeres. (18)

En el Perú, entre los años comprendidos de 1996 al 2000, las enfermedades cardiovasculares representaron el 15,4% del total de causas de muerte, caracterizándose por producir la mayor mortalidad en el país. (19) La carga de enfermedad (AVISA o AVAD o DALY en inglés) mide los años saludables perdidos en el futuro como resultado de la mortalidad precoz y la duración de la discapacidad en la población; y en el Perú se ha estimado en el año 2004 que las enfermedades cardiovasculares representan el cuarto lugar de carga de enfermedad causando una pérdida de 390 121 años de vida saludable, es decir 8% del total de AVISA. (20)

Como consecuencia de los cambios demográficos y epidemiológicos de las últimas décadas, en el Perú se han producido importantes modificaciones en los perfiles de mortalidad y morbilidad, constituyendo las enfermedades cardiovasculares, el accidente cerebrovascular (ACV), las neoplasias malignas y diabetes mellitus (DM) las principales causas de muerte y morbilidad en población adulta. (21)

En el estudio TORNASOL II realizado en el Perú en el año 2013 (actualización del TORNASOL I del año 2006) los resultados muestran una elevada prevalencia de los factores de riesgo cardiovasculares, similar a otros lugares del mundo, solo un 13,8% de la población peruana sabe que tiene hipercolesterolemia, con lo cual probablemente haya una prevalencia real alrededor del 27% como se observa en trabajos realizados con datos bioquímicos en algunas localidades aisladas de nuestro país. (22) Asimismo se observa un aumento significativo de la prevalencia nacional de hipercolesterolemia, del 10% encontrado en TORNASOL I al 13,8% en TORNASOL II. (22)

Las enfermedades cardiovasculares se han convertido en una epidemia, lo que ha motivado que se constituyan en una de las áreas de investigación más extensa. El origen de estas enfermedades es multifactorial. El estudio INTERHEART demostró que los nueve factores de riesgo modificables para infarto de miocardio son los mismos para la mayoría de grupos poblacionales, estos son: tabaquismo, sedentarismo, consumo exagerado de alcohol, malos hábitos alimenticios, hipertensión, diabetes, obesidad abdominal, estrés psicosocial (laboral y familiar) y elevada razón de apolipoproteína B100/apolipoproteína A1. (23)

Los cambios en las tasas de colesterol total / HDL, colesterol no-HDL/ HDL, apoB/apoA1 y LDL / HDL son considerados mejores predictores de riesgo para enfermedad cardiovascular que los cambios en los niveles de colesterol LDL por sí solos (1) (24) (25); así el índice aterogénico es considerado, en diversos estudios, un mejor indicador de riesgo para enfermedad cardíaca que la concentración de lipoproteínas *per se*. (26) (27)

La hipercolesterolemia se considera como un factor de riesgo importante para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares ateroscleróticas. (28) El American College of Cardiology y la American Heart Association han publicado, en el 2013, la nueva Guía de tratamiento del colesterol sanguíneo para reducir el riesgo cardiovascular, que reemplaza a la ATP III del 2001. (29) Así, la medicina basada en evidencia muestra que el tratamiento de la hipercolesterolemia se centra en cambios en la dieta, en el estilo de vida, y, dependiendo del grupo al que se pertenece (p.e. individuo con enfermedad cardiovascular clínica, o individuo con elevación única de colesterol LDL mayor a 190), también está indicado el tratamiento farmacológico con estatinas. (29)

Las estatinas representan la principal clase terapéutica de los agentes hipolipemiantes, pero pueden producir diversos efectos adversos incluyendo, entre otros, lesiones del músculo esquelético dosis-dependiente, que van desde dolor muscular a manifestaciones clínicas de rabdomiolisis; así como daño hepático e incremento de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 en individuos con factores de riesgo para desarrollar diabetes. (29) Asimismo las estatinas están listadas en la categoría X del embarazo, y no deben utilizarse en mujeres en edad fértil a menos que estén usando un método anticonceptivo eficaz; además está contraindicada su ingesta durante la lactancia. (29) Igualmente está recomendado el uso cuidadoso de éste fármaco en pacientes mayores de 75 años o que estén recibiendo medicación múltiple (p.e. individuos en tratamiento para VIH o TBC). (29) Por lo tanto hay una evidente necesidad de tratamientos alternativos más eficaces y con menos efectos secundarios, por lo que actualmente son prioritarias las investigaciones en ese sentido (29), y la atención está dirigida a medicinas de origen vegetal con actividad hipolipidémica.

Las estatinas actúan inhibiendo competitivamente la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa, y por lo tanto reducen la producción de colesterol hepatocelular mediante la reducción de la síntesis de mevalonato. El mevalonato es un precursor del colesterol, así como también de toda una clase de otras sustancias importantes para el organismo, como ubiquinona

(también llamada Coenzima Q, presente en la cadena respiratoria mitocondrial), dolicoles y otros isoprenoides. (29) (30)

Muchos estudios epidemiológicos han indicado una asociación inversa entre una dieta basada en plantas y el riesgo de desarrollo de procesos patológicos crónicos asociados con estrés oxidativo, incluyendo cáncer, enfermedades cardiovasculares y otros desordenes degenerativos asociados a la edad. (31) (32) (33) La presencia de componentes antioxidantes en frutas y vegetales podría estar asociado con estos efectos benéficos de la salud, protegiendo a las biomoléculas del daño oxidativo.

En los últimos años, ha habido un interés renovado en estudiar y cuantificar los constituyentes antioxidantes y antiinflamatorios de plantas en términos de su potencial funcionalidad para la salud a través de la acción contra diversos procesos patológicos. (34) (35) (36)

El género *Capsicum* es generalmente conocido como pimiento chile o *chile pepper*, y es una de las más populares hortalizas y especias en el mundo. En realidad, este término general, así como otras denominaciones tales como ají, rocoto, uchu, huaica, paprika, pimentón, pimiento, guindilla, peperoncino, incluye a varias especies de dicho género. (37) (38) (39) (40)

El género *Capsicum* pertenece a la división *Magnoliophyta*, clase *Magnoliopsida*, subclase *Asteridae*, orden *Solanales*, familia *Solanaceae*. Este género comprende más de 200 variedades y los frutos varían mucho en tamaño, forma, sabor y sensibilidad al calor. Cinco especies principales se citan en la literatura: *Capsicum annuum*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum chinense*, *Capsicum frutescens* y *Capsicum pubescens*. Las especies de *Capsicum* son nativas de las zonas tropicales y húmedas de América Central y América del Sur, e incluyen pimientos de importante valor económico, llegando a valores de producción de 2.8 billones de dólares en productos frescos y 655 millones de dólares en el año 2005. (37) (41) En el Perú se ha reportado un incremento en las exportaciones del género *Capsicum* desde 15 mil toneladas en el año 2003 hasta 49 mil toneladas en el 2012, produciéndose un aumento en los valores de producción desde 22 millones de dólares

a 112 millones de dólares, en los respectivos años. (10) Se utilizan comúnmente como especia o alimentos y también para una amplia variedad de aplicaciones terapéuticas en las tradiciones de la India, los nativos americanos y medicina china tradicional para el tratamiento de la artritis, el reumatismo, dolor de estómago, erupciones en la piel, mordedura de perro / serpiente y heridas (42)

Uno de los rasgos más característicos de *Capsicum* es su diversidad en el color del fruto, que es debido a su singular contenido en los diferentes carotenoides. (39) Estos pigmentos, esenciales para su uso como colorantes de alimentos, también les confieren a estas frutas un notable valor nutricional. Así, muchos de sus carotenoides han demostrado una fuerte actividad antioxidante (43), lo cual parece proteger contra enfermedades del corazón y varios tipos de cáncer. (44) (45) (46)

La combinación de evidencia arqueológica, análisis genéticos, y la distribución moderna de las plantas han llevado a los investigadores a sugerir que las especies cultivadas de *Capsicum* se han desarrollado independientemente a partir de poblaciones ancestrales muy diferentes en tres centros distintos de origen: en el sur de Perú y Bolivia (*C. baccatum* y *C. pubescens*), en México (*C. annuum*) y en la "Amazonia" (*C. chinense* y *C. frutescens*). (47) (48) (49) Con toda probabilidad, las especies cultivadas fueron domesticadas en diferentes momentos durante los últimos 4000 años, de una forma ancestral del área de Bolivia-Perú. (50) (51)

Los restos arqueológicos más antiguos de *Capsicum baccatum* se hallan en la Cueva de Guitarrero, en la provincia de Yungay (Áncash), éstos se remontan unos 8000 años a. C. (50) Asimismo, restos de aparato digestivo en tumbas del complejo arqueológico Huaca Prieta (2500 a.C.), en el valle de Chicama (La Libertad) demuestran que *Capsicum baccatum* era parte importante en la dieta del agricultor peruano antiguo. (47) El examen detallado del material de *Capsicum* hallado en Huaca Prieta, muestra que *Capsicum baccatum* estuvo presente durante todo el período de ocupación humana y fue gradualmente mejorado por selección. (47)

En el sitio arqueológico de Los Gavilanes (6000-4000 a.C.), en Huarmey, se ha descubierto coprolitos de *Capsicum*. (52) Más al sur, a 3600 m.s.n.m., en los Andes peruanos, se encuentra el sitio de Waynuna, una casa del Precerámico Tardío que fue ocupada alrededor de 4000 años a.C., según los datos de un estudio se indica que en Waynuna, hubo restos del procesamiento de almidones de *Capsicum pubescens* en asociación con restos de maíz y de *Solanum sp.* (40) Asimismo se han hallado residuos en un contexto ceremonial en el sitio arqueológico Buena Vista, en el valle del Río Chillón (2200 a.C.). (53)

“Los indios peruanos son tan amigos del uchu (ají, en quechua) que no comerán sin él aunque no sea sino unas yerbas crudas... lo echan en todo lo que comen” escribió Inca Garcilaso de La Vega en sus Comentarios Reales. (54) Esto queda ampliamente demostrado en la cultura Inca con la representación de *Capsicum* en cerámicos y textiles. (50)

Las especies *Capsicum baccatum* y *Capsicum pubescens* son ampliamente utilizados en la cocina de los países andinos como Perú, Bolivia y Ecuador. (38)

En el Perú se cultivan varias especies del género *Capsicum*, dependiendo de la región podemos encontrar *Capsicum chinense* (ají limo, ají panca), *Capsicum baccatum* var. pendulum (ají amarillo, ají mirasol), *Capsicum pubescens* (rocoto), *Capsicum annuum* (ají cerezo), entre otras. (50) Así, *Capsicum* forma parte esencial de la culinaria peruana, estando presente en platos típicos como papa a la huancaína, escabeche, cau-cau, ceviche, ají de gallina, causa limeña y ocopa arequipeña, los cuales empiezan a ser altamente valorados en el mundo, lo que ha pasado a denominarse “el boom de la gastronomía peruana”. (50)

Entre las especies cultivadas, *C. annuum* L. es el más popular y económicamente importante, y sus variedades se cultivan en todo el mundo. (55) Esta especie está filogenéticamente cerca de *C. chinense* Jacq. (por ejemplo, tipo Havanero) y *C. frutescens* L. (por ejemplo, el tipo Tabasco). (55) Las 3 especies se pueden cruzar sexualmente y el complejo resultante annuum-chinense-frutescens, se caracteriza por flores blancas y semillas amarillas. (38) (39)

*Capsicum annuum*, *Capsicum chinense* y *Capsicum frutescens* tienen una amplia gama de fitoquímicos con propiedades antioxidantes bien conocidas (56) (57) como los carotenoides (58) capsaicinoides (59) (60) (61) (62) y compuestos fenólicos en particular los flavonoides, quercetina y luteolina. (6) (63) (64) (65)

La pungencia, o picante, de *Capsicum* es causada por la capsaicina, un alcaloide lipofílico y sus análogos, llamados capsaicinoides. (66) La sensación de ardor causada por la capsaicina es desencadenada por la activación de receptores vaniloides en la boca, a saber, TRPV1 en los nervios sensoriales, que son estimulados por calor o abrasión física, explicando así la sensación de calor.

En ensayos realizados con animales, *Capsicum annuum* ha mostrado propiedades que mejoran los niveles de lipoproteína de alta densidad (HDL), así como la expresión de genes hepáticos involucrados en la vía metabólica de síntesis de HDL, tales como apoA5 y LCAT. (3) Asimismo un estudio con *Capsicum annuum* sugiere que los carotenoides principales pueden inhibir eficazmente la oxidación de lipoproteína de baja densidad (LDL) humana in vitro con probable reducción en la producción de LDL oxidada "aterogénica" humana in vivo, por lo que dichos carotenoides podrían ser considerados como un posible medio de prevención de la aterosclerosis. (2)

Las formas cultivadas de *Capsicum* también incluyen dos especies menos conocidas llamadas *C. baccatum* L. var. *pendulum* y *C. pubescens*. Ambas especies representan taxones separados y han crecido en la región andina durante milenios, donde se encuentran, respectivamente, llamados ajíes y rocotos. (37) (38) (39) *Capsicum baccatum* muestra flores blancas con manchas de color amarillo / verde y semillas amarillas, y su rango de cultivo abarca varios países de América del Sur, aunque también se pueden encontrar, en menor medida, en Costa Rica, la India, y EE.UU. (38)

Son pocos los informes que se encuentran en la literatura sobre *Capsicum baccatum* y que aborden la composición de carotenoides, capsaicinoides y antioxidantes. Un estudio mostró que especímenes de *Capsicum baccatum* muestran patrones de carotenoides cualitativa y



cuantitativamente similares a *Capsicum annuum*, dependiendo del estadio de maduración y su color, así los frutos de color rojo de ambas especies fueron muy parecidos, en tanto que la comparación de frutos rojos y amarillos fue disímil. (5) Además son fuentes ricas en provitamina A. (5) Añadido a su probable capacidad antioxidante se menciona también una capacidad antimicrobiana (6) (67) y propiedades antiinflamatorias. (7)

Con respecto a otros componentes importantes de las plantas, los compuestos fenólicos, o polifenoles, son un grupo de metabolitos secundarios que han sido frecuentemente investigados en lo concerniente a su potencial antioxidante. (68) (69) (70) (71) Estos fitoquímicos pueden actuar como antioxidantes debido a que presentan propiedades redox, lo que les permite eliminar los radicales libres e inactivar otros pro-oxidantes. (72) Además, la actividad antimicrobiana de estos compuestos también han sido reportados. (73) Zimmer *et al* determinó que el contenido fenólico y flavonoide, en ejemplares de *Capsicum baccatum*, fueron más altos que los valores de otras especies de *Capsicum* reportados en la literatura. (7) Estas diferencias pueden atribuirse a la variedad botánica, estadio de maduración, método analítico y origen geográfico de las plantas. (7) Asimismo, Kappel *et al* corrobora los hallazgos en mención, reportando niveles más altos de contenido fenólico en *Capsicum baccatum* que en otras especies de *Capsicum*. (6)

Estudios recientes han demostrado que la hiperlipidemia, la inflamación subclínica y el estrés oxidativo están estrechamente relacionados con la patogénesis de la aterosclerosis y, en consecuencia, el aumento del riesgo de enfermedades cardiovasculares. (74) (75) Así, fue razonable especular que un agente con actividades antioxidantes y antiinflamatorias sería útil en la prevención de estas patologías.

### **ENUNCIADO DEL PROBLEMA**

¿El extracto hidroalcohólico de *Capsicum baccatum* ejercerá efecto hipocolesterolémico en un modelo experimental de hipercolesterolemia en ratas Sprague-Dawley?

### **HIPÓTESIS**

El extracto hidroalcohólico de *Capsicum baccatum* tiene efecto hipocolesterolémico en un modelo experimental de hipercolesterolemia en ratas Sprague-Dawley.

### **OBJETIVOS**

#### **Objetivo general:**

Demostrar el efecto hipocolesterolémico del extracto hidroalcohólico de *Capsicum baccatum* en un modelo experimental de hipercolesterolemia en ratas Sprague-Dawley.

#### **Objetivos específicos:**

Determinar los valores de colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL y triglicéridos en muestras de sangre de los animales del grupo control y de los grupos experimentales.

Determinar los valores de capacidad antioxidante mediante método FRAP y ABTS en muestras de sangre de los animales del grupo control y de los grupos experimentales.

Medir la variación del peso corporal, ingesta de alimentos y excreción fecal de los animales del grupo control y de los grupos experimentales.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **Material:**

#### **Material biológico:**

Treinta ratas macho de la cepa Sprague-Dawley, con edad promedio 8 semanas, con peso promedio  $275 \pm 27$  g, libres de patógenos específicos, compradas del Bioterio de la Universidad Particular Cayetano Heredia (UPCH, Lima, Perú).

#### **Material fitoquímico:**

Diez kilogramos de frutos de *Capsicum baccatum*, obtenidos de las áreas cultivadas de la localidad de Huaral (Lima, Perú), a altitud 188 msnm, en enero del 2014.

#### **Instrumental y equipos:**

- |   |   |
|---|---|
| - Licuadora eléctrica semi-industrial Warin <sup>®</sup>  | - Centrifuga Greetmed GT119-300 <sup>®</sup>      |
| - Frascos de vidrio de borosilicato (Pyrex <sup>®</sup> ) | - Pipeta Transferpette Brand <sup>®</sup>         |
| - Balanza analítica Sartorius BP221S <sup>®</sup>         | - Tubos de microcentrífuga Eppendorf <sup>®</sup> |
| - Balanza electrónica Napco 21001 <sup>®</sup>            | - Baño maría digital Tomos CDK-S22 <sup>®</sup>   |
| - Jeringas estériles 5 mL y agujas N° G21                 | - Espectrofotómetro Greetmed NV203 <sup>®</sup>   |

### **Métodos:**

#### **Tipo de investigación:**

El presente estudio es un modelo de investigación experimental aleatorizado o verdadero o randomizado, debido a que presentó un grupo control que no recibió la intervención bajo estudio y, además, se procedió a seleccionar de forma aleatoria la distribución de los grupos mediante una

tabla de números aleatorios, asegurando así la repartición al azar de los sujetos de estudio. Por razones operativo-técnicas no se realizó una medición sérica basal.

### **Población y muestra:**

La muestra objeto de esta investigación estuvo constituida por 30 ratas macho de la cepa Sprague-Dawley, seleccionadas al azar de la población de ratas Sprague-Dawley del Bioterio de la Universidad Particular Cayetano Heredia (UPCH), y distribuidas aleatoriamente en 6 grupos de 5 ratas cada uno. El número de animales por grupo se estimó a partir de los reportes existentes de estudios similares. (3) (27) (81) (82) (83) Asimismo, se utilizó el menor número posible de ratas siguiendo las reglas de Russell y Burch (84), en lo que respecta a la regla de reducción, que implica el uso de un menor número de animales para obtener datos suficientes en la investigación.

### **Extracto de *Capsicum baccatum*:**

El fruto fresco de *Capsicum baccatum* L. se obtuvo de las áreas cultivadas de la localidad de Huaral (Lima, Perú), a altitud 188 msnm, en enero del 2014. El espécimen fue identificado y certificado por la Mg. Maria Isabel La Torre y la Dra. Haydee Montoya Terreros en el Herbario del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos UNMSM (Lima, Perú), mediante constancia N° 02-USM-2014. (Figura 9)

Diez kilogramos (10 kg) de fruto fresco de *Capsicum baccatum* L, fueron lavados con abundante agua potable, y a continuación, incluyendo pericarpio, placenta y semillas, fueron licuados con veinte litros (20 L) de etanol al 70% (relación fruto: solvente, 1: 2 kg/L), por un tiempo aproximado de 10 minutos. Inmediatamente se procedió a su almacenamiento en frascos de vidrio de borosilicato de color ámbar, en un lugar oscuro, a temperatura ambiente (26°C) y a humedad 71%, para el proceso de maceración, durante un periodo de 7 días. Posterior al periodo mencionado, la muestra obtenida fue filtrada 2 veces con gasas estériles de hilos de algodón de 15x15 cm, y el extracto etanólico resultante puesto en bandejas de vidrio de borosilicato, y luego éstas puestas en

una cámara sometida a 60° C por un lapso de 5 días para la evaporación del solvente etanólico, obteniéndose así 250 g de extracto seco de *Capsicum baccatum* L. El rendimiento de la muestra de *Capsicum baccatum* fue 2,5%.

El extracto seco de *Capsicum baccatum* L fue almacenado en un frasco de vidrio de borosilicato de color ámbar con capacidad de 500 mL, a temperatura ambiente y protegido de la luz en un lugar oscuro para evitar su degradación.

## Animales

Treinta ratas (*Rattus norvegicus* var *Albinus*) machos de la cepa Sprague-Dawley, con peso promedio  $275 \pm 27$  g, libres de patógenos específicos, fueron compradas del Bioterio de la Universidad Particular Cayetano Heredia (UPCH, Lima, Perú), con factura N° 0002329, y mantenidas con una dieta estándar (Tabla 1) durante 7 días antes de iniciar el experimento, como periodo de adaptación; en tanto que el periodo experimental duró 21 días.

Todas las ratas fueron mantenidas según la guía establecida por National Research Council: Guide for the care and use of laboratory animals, publicada en el año 2011 (84), en el Bioterio del Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición (CIBN) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM), en un medio ambiente ventilado bajo condiciones controladas a 22-26°C de temperatura, 60-65 % de humedad, con ciclos de luz día-noche de 12 horas, en cajas metálicas conteniendo 2 ratas o en cajas individuales. Todos los animales tuvieron acceso *ad libitum* a dieta y agua potable.

Las ratas fueron divididas aleatoriamente ( $n=5$ ) en uno de los 6 grupos siguientes: control (C), hipercolesterolemia (HC), atorvastatina 10 mg/kg (A), extracto de *Capsicum baccatum* 50 mg/kg (EC1), extracto de *Capsicum baccatum* 200 mg/kg (EC2) y extracto de *Capsicum baccatum* 350 mg/kg (EC3). (Ver Tabla 3)

Las variaciones en el peso corporal de cada rata fueron controladas semanalmente en el día 1, día 8, día 15 y día 22 (previo al sacrificio) del experimento mediante una balanza electrónica (precisión: 0,01 g). Además la ingesta de alimentos y la excreción fecal de cada grupo fueron medidas diariamente durante todo el experimento con la misma balanza, así, el cálculo de la ingesta de alimentos se realizó restando la comida servida diaria menos la comida sobrante del día siguiente; en tanto que el cálculo de la excreción fecal se realizó pesando diariamente las heces depositadas en las bandejas de las cajas metálicas.

### **Preparación y administración de las dietas**

Las dietas purificadas experimentales fueron preparadas por Dyets Inc<sup>®</sup> (Pensilvania, EE.UU), con comprobante N° 40356, tomando en cuenta los estándares dietéticos del último reporte final del American Institute of Nutrition del año 1993. (78) El grupo control de ratas adultas fue alimentado con dieta estándar de mantenimiento recomendada por American Institute of Nutrition (AIN-93M) (78), tal como se especifica en la Tabla 1; en los 5 grupos restantes la hipercolesterolemia fue inducida incluyendo 1% de colesterol (10 g/kg de dieta) y 0,5% de ácido cólico (5 g/kg de dieta) en la dieta estándar AIN-93M, en reemplazo de cantidades exactas de almidón de maíz, especificada en la Tabla 2, tal como se propone en modelos experimentales de diversos estudios. (27) (82) (85) (86) Las dietas experimentales fueron mantenidas a una temperatura de congelación de -16°C hasta su uso, en una refrigeradora del Bioterio del Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición, obteniéndose así comida fresca todos los días.

**Tabla 1. Composición de la dieta estándar para mantenimiento de las ratas.**

Ingredientes	Calorías (kcal/g dieta)	Peso (g/kg dieta)	Calorías por peso (kcal/kg dieta)
Almidón de maíz	3,6	465,7	1676,5
Caseína	3,6	140	501,2
Almidón de maíz dextrinizado	3,8	155	589
Sucrosa (sacarosa)	4	100	400
Aceite de soya (sin aditivos)	9	40	360
Fibra	0	50	0
Mix mineral (AIN-93M-MX*)	0,8	35	29,4
Mix vitamínico (AIN-93-VX*)	3,9	10	38,7
L cistina	4	1,8	7,2
Colina bitartrato	0	2,5	0
t-Butilhidroquinona	0	0,008	0
Total		1000	3602

\* AIN: American Institute of Nutrition (1993)

**Tabla 2. Composición de la dieta modificada alta en colesterol (hipercolesterolémica) para mantenimiento de las ratas.**

Ingredientes	Calorías kcal/g dieta	Peso g/kg dieta	Calorías por peso kcal/kg
Almidón de maíz	3,6	450,7	1622,5
Caseína	3,6	140	501,2
Almidón de maíz dextrinizado	3,8	155	589
Sucrosa (sacarosa)	4	100	400
Aceite de soya (sin aditivos)	9	40	360
Fibra	0	50	0
Mix mineral (AIN-93M-MX*)	0,8	35	29,4
Mix vitamínico (AIN-93-VX*)	3,9	10	38,7
L cistina	4,0	1,8	7,2
Colina bitartrato	0	2,5	0
Colesterol	0	10	0
Acido cólico	0	5	0
t-Butilhidroquinona	0	0,008	0
Total		1000	3548

\* AIN: American Institute of Nutrition (1993)

El experimento duró 21 días, con un periodo previo de adaptación por un lapso de 7 días. Durante el periodo experimental el grupo C recibió dieta estándar (Tabla 1), el grupo HC recibió dieta

modificada con colesterol y ácido cólico (Tabla 2), el grupo A recibió 10 mg/kg de atorvastatina (Lipitor®) como droga hipocolesterolémica de referencia (30) (87) (88) además de dieta modificada, el grupo EC1 recibió 50 mg/kg de extracto de *Capsicum baccatum* y dieta modificada, el grupo EC2 recibió 200 mg/kg de extracto de *Capsicum baccatum* y dieta modificada, en tanto que el grupo EC3 recibió 350 mg/kg de extracto de *Capsicum baccatum* y dieta modificada.

Las dietas estándar y modificada fueron proporcionadas *ad libitum*, en tanto que los extractos de *Capsicum baccatum* y atorvastatina fueron administrados mediante cánula oro-gástrica una vez por día durante el periodo que duró el experimento (21 días). Para garantizar idénticas condiciones experimentales, a las ratas de los grupos C (control) y HC (hipercolesterolemia) se les administró agua potable (1,5 mL) mediante cánula oro-gástrica.

Las dosis del extracto seco de *Capsicum baccatum* y del fármaco atorvastatina se calcularon semanalmente en función del peso de cada rata (mg/kg de peso); luego de realizarse los cálculos se procedió a pesar cada dosis en una balanza analítica (precisión: 0,0001 g). El fármaco atorvastatina fue previamente molido en un mortero. Cada dosis del extracto de *Capsicum baccatum* y del fármaco atorvastatina fueron disueltas en 1,5 mL de agua potable antes de ser administradas mediante cánula oro-gástrica.

**Tabla 3. Distribución por grupos de los animales de experimentación.**

Grupo C (n=5)	Grupo HC (n=5)	Grupo A (n=5)	Grupo EC1 (n=5)	Grupo EC2 (n=5)	Grupo EC3 (n=5)
Dieta estándar	Dieta modificada (hipercolesterolémica)	Dieta modificada + atorvastatina 10 mg/kg	Dieta modificada + Cb 50mg/kg	Dieta modificada + Cb 200mg/kg	Dieta modificada + Cb 350mg/kg
n: numero de ratas Sprague-Dawley; Cb: Extracto de <i>Capsicum baccatum</i> ; C: grupo control; HC: grupo hipercolestrolemia; A: grupo atorvastatina; EC1: grupo extracto de <i>Capsicum baccatum</i> 50mg/kg; EC2: grupo extracto de <i>Capsicum baccatum</i> 200mg/kg; EC3: grupo extracto de <i>Capsicum baccatum</i> 350mg/kg.					



### **Sacrificio de animales y toma de muestras**

En el día final (día 21) del experimento los animales fueron privados de alimentos durante la noche, mantenidos únicamente con agua *ad libitum*, y al día siguiente (día 22) se procedió a la eutanasia de cada rata, en condiciones adecuadas de bioseguridad, según *AVMA Guidelines on euthanasia* de la *American Veterinary Medical Association* (89). Las ratas fueron previamente anestesiadas mediante vapor de éter (algodón empapado con 0,5 mL) en una cámara individual de vidrio; luego se procedió a la extracción de 4 mL de muestra sanguínea de cada rata, mediante punción cardiaca con jeringas estériles, la sangre fue recogida en tubos de ensayo sin anticoagulante. El suero fue obtenido por centrifugación a 4000 rpm durante 10 minutos, el cual fue separado de los elementos formes mediante pipeta. Los sueros fueron almacenados en tubos de microcentrífuga a -20°C, en una refrigeradora, hasta el momento de su análisis bioquímico.

### **Análisis bioquímico**

Las concentraciones de colesterol total (CT), colesterol HDL, colesterol LDL y triglicéridos (TG) fueron determinadas usando kits comerciales (Wiener Lab Group, Argentina): Colestat Enzimático AA/líquida<sup>®</sup>, HDL Colesterol Reactivo Precipitante<sup>®</sup>, LDL Colesterol Reactivo Precipitante<sup>®</sup> y TG Color GPO/PAP AA<sup>®</sup>, respectivamente, mediante método enzimático por espectrofotometría.

**Determinación bioquímica de colesterol total:** Para la determinación de colesterol total (CT) de una muestra se utilizaron las siguientes proporciones en 3 tubos de ensayo (B: Blanco, S: Estándar, D: Desconocido): 1mL de Reactivo A (proporcionado en el kit) para cada uno de los 3 tubos, 10 µL de muestra sérica en el tubo D, y 10 µL de Reactivo Standard para el tubo S. Luego se incubó por 5 minutos a 37°C en baño maría digital, y se leyó a 505 nm en un espectrofotómetro llevando a cero con el blanco. El cálculo final se realizó con la siguiente fórmula:  $D \times (2 / S)$  en g/L.

**Determinación bioquímica de colesterol HDL:** Para la determinación de colesterol HDL de una muestra, primero, se midió 500 µL de muestra sérica en un tubo de ensayo, y se agregó 50 µL de

Reactivo Precipitante (proporcionado en el kit HDL Colesterol Reactivo Precipitante<sup>®</sup>). Luego se homogeneizó agitando (sin invertir) durante 20 segundos y se dejó 30 minutos en refrigeración (2-10°C). Inmediatamente se centrifugó durante 15 minutos a 3000 r.p.m. y se usó el sobrenadante límpido como muestra final. Posteriormente se utilizaron las siguientes proporciones en 3 tubos de ensayo (B: Blanco, S: Estándar, D: Desconocido): 2mL de Reactivo A (proporcionado con el kit Colestat Enzimático AA/líquida<sup>®</sup>) para cada uno de los 3 tubos, 100 µL del sobrenadante final en el tubo D, y 20 µL de Reactivo Standard para el tubo S. Luego se incubó por 5 minutos a 37°C en baño maría digital, y se leyó a 505 nm en un espectrofotómetro llevando a cero con el blanco. El cálculo final se realizó con la siguiente fórmula:  $D \times (0.457 / S)$  en g/L.

**Determinación bioquímica de colesterol LDL:** Para la determinación de colesterol LDL de una muestra, primero, se midió 200 µL de muestra sérica en un tubo de ensayo, y se agregó 100 µL de Reactivo A (proporcionado en el kit LDL Colesterol Reactivo Precipitante<sup>®</sup>). Luego se homogeneizó agitando (sin invertir) durante 20 segundos y se dejó 15 minutos en baño de agua (20-25°C). Inmediatamente se centrifugó durante 15 minutos a 3000 r.p.m. y se usó el sobrenadante como muestra para el ensayo colorímetro. Posteriormente se utilizaron las siguientes proporciones en 3 tubos de ensayo (B: Blanco, S: Estándar, D: Desconocido): 2mL de Reactivo A (proporcionado con el kit Colestat Enzimático AA/líquida<sup>®</sup>) para cada uno de los 3 tubos, 100 µL del sobrenadante final en el tubo D, y 20 µL de Reactivo Standard para el tubo S. Luego se incubó por 5 minutos a 37°C en baño maría digital, y se leyó a 505 nm en un espectrofotómetro llevando a cero con el blanco. El cálculo final se realizó con la siguiente fórmula:  $(\text{Colesterol total}) - (D \times (0,624 / S))$  en g/L.

**Determinación bioquímica de triglicéridos:** Para la determinación de triglicéridos de una muestra se utilizaron las siguientes proporciones en 3 tubos de ensayo (B: Blanco, S: Estándar, D: Desconocido): 1mL de Reactivo de Trabajo (proporcionado en el kit TG Color GPO/PAP AA<sup>®</sup>) para cada uno de los 3 tubos, 10 µL de muestra sérica en el tubo D, y 10 µL de Reactivo Standard para el tubo S. Luego se incubó durante 5 minutos a 37°C en baño maría digital, y se leyó a 505 nm en

un espectrofotómetro llevando a cero con el blanco. El cálculo final se realizó con la siguiente fórmula:  $D \times (2 / S)$  en g/L.

El índice de aterogenicidad fue calculado usando la fórmula:  $(\text{Colesterol total} - \text{coolesterol HDL}) / \text{coolesterol HDL}$  descrita por Aziz y Fassini en sus respectivos trabajos. (25)(26)

**Determinación de capacidad antioxidante mediante FRAP (*Ferric Reducing Ability of Plasma*):**

Fundamento: la técnica se basa en la alta capacidad complejante de la molécula TPTZ (2, 4, 6-tripiridil-s-triazina) frente al  $\text{Fe}^{+2}$ , o dicho de otra forma, es el poder que tiene una sustancia antioxidante para reducir el  $\text{Fe}^{+3}$  a  $\text{Fe}^{+2}$ , lo que genera un espectro de absorbancia que se mide a 593 nm. (79) En presencia del ión  $\text{Fe}^{+3}$ , la molécula TPTZ fácilmente oxida a los antioxidantes, generándose el complejo reducido TPTZ- $\text{Fe}^{+2}$ . Así, la absorbancia se incrementará a mayor coloración y en función de la presencia de antioxidantes (reductores). (79)

Reactivos: la solución de trabajo FRAP se preparó en el momento con una proporción 100: 1: 1 de Reactivo A (buffer acetato a concentración 300 mM y pH 3,6), Reactivo B (TPTZ a 10 mM en solución HCl a 40mM) y Reactivo C ( $\text{FeCl}_3$  a 20 mM), respectivamente.

Procedimiento: Para la determinación se utilizaron las siguientes proporciones en 3 tubos de ensayo (B: Blanco, S: Estándar, D: Desconocido): 950  $\mu\text{l}$  de solución FRAP para cada uno de los 3 tubos, 50  $\mu\text{L}$  de muestra sérica en el tubo D, 50  $\mu\text{L}$  de Reactivo AA (ácido ascórbico o vitamina C) para el tubo S y 50  $\mu\text{L}$  de agua bidestilada para el tubo B. Las mezclas se dejaron en reposo durante 10 minutos y las lecturas del producto (complejo TPTZ- ferroso) fueron medidas a 593 nm en un espectrofotómetro.

**Determinación de capacidad antioxidante mediante ABTS (ácido 2,2'-azinobis 3-etilbenzotiazolín-6-sulfónico):**

Fundamento: el principio de la técnica es la reducción (decoloración) del radical libre catiónico ABTS<sup>+</sup> frente a una sustancia con capacidad antioxidante, obteniéndose un espectro de absorbancia que se mide a una longitud de 734 nm. (80)

Reactivos: el radical libre catiónico ABTS<sup>+</sup>, se preparó disolviendo el compuesto ABTS a una concentración final de 7 mM y añadiendo persulfato de potasio a una concentración final de 2,45 mM. Se dejó en reacción alejado de la luz durante 16 h. Para el ensayo se preparó una dilución del radical ABTS<sup>+</sup> a una absorbancia inicial de  $0,7 \pm 0,02$  a 734 nm en medio acuoso.

Procedimiento: cada uno de los 3 tubos de reacción (B: Blanco, S: Estándar, D: Desconocido) contenía 980 µL de la solución del radical libre ABTS<sup>+</sup>, 20 µL de compuesto antioxidante Trolox (análogo de vitamina E) en el tubo S, 20 µL de muestra sérica en el tubo D y 20 µL de agua en el tubo B. La absorbancia se midió 7 minutos después de la mezcla inicial en un espectrofotómetro a 734 nm.

### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico fue realizado usando el software GraphPad Prism<sup>®</sup> versión 5 (GraphPad Software, Inc., California, EEUU) y SPSS versión 17.0 (SPSS, Inc., Chicago, EEUU), programas computarizados de análisis estadístico. Valores de  $p < 0,05$  fueron considerados estadísticamente significativos.

Los datos fueron comparados entre grupos con análisis de varianza de una vía o one-way (ANOVA). La prueba de ANOVA requiere de tres supuestos: independencia, normalidad y homocedasticidad, los cuales fueron previamente corroborados mediante el test de Shapiro-Wilk para el supuesto de normalidad y el test de Levene para el supuesto de homocedasticidad. La determinación de la distribución normal de las variables cuantitativas se realizó aplicando el test de Shapiro-Wilk porque el número de ratas fue menor a 50.

Cuando hubo una diferencia significativa aparente entre los grupos, se realizó la comparación por pares con el test *post hoc* de Tukey, para identificar los grupos en los que existía diferencia. La

interpretación de este test *post hoc*, se realiza de manera similar a la prueba ANOVA, es decir, que el valor de  $p < 0,05$ , da significancia a la prueba.

## **RESULTADOS**

Los resultados fueron expresados como valores de las medias y errores estándar para 5 ratas de cada uno de los seis grupos.

Tabla 4. Variación del peso corporal, ingesta de alimentos y excreción fecal en ratas Sprague Dawley alimentadas con dietas estándar y modificada (hipercolesterolémica) durante 21 días.

Variables			C		HC		A		EC1		EC2		EC3	
			Media	SE	Media	SE	Media	SE	Media	SE	Media	SE	Media	SE
Variación	del	peso	49,52	13,06	22,26	12,21	31,8	9,42	53,7	4,63	51,56	2,69	59,76	4,85
corporal (g) *														
Ingesta	de	alimentos	14,98	0,78	14,69	0,8	16,0	0,83	15,8	0,9	15,87	0,88	16,42	0,87
(g/d) †														
Excreción fecal (g/d) ¥			6,27	0,27	11,09	0,51	11,97	0,58	11,44	0,7	11,95	0,56	11,79	0,51

C= grupo control, HC= grupo hipercolesterolemia, A= grupo atorvastatina 10 mg/kg, EC1= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 50mg/kg; EC2= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 200mg/kg; EC3= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 350mg/kg, \* Peso corporal ganado durante el periodo de 21 días. (Peso final – peso inicial), † Ingesta diaria de alimentos durante el periodo de 21 días. ¥ Peso fecal diario durante el periodo de 21 días.

Tabla 5. Análisis descriptivo de la variación en el peso corporal (g) de ratas Sprague Dawley alimentadas con dietas estándar y modificada (hipercolesterolémica) durante 21 días.

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Grupo C	5	49,52	29,20	13,06	13,26	85,78	3,80	79,00
Grupo HC	5	22,26	27,31	12,21	-11,65	56,17	-11,90	45,70
Grupo A	7	31,80	24,92	9,42	8,76	54,85	-23,10	49,20
Grupo EC1	5	53,70	10,34	4,63	40,86	66,54	41,90	69,00
Grupo EC2	5	51,56	6,01	2,69	44,10	59,02	44,50	60,90
Grupo EC3	6	62,98	12,50	5,10	49,87	76,10	51,80	79,10
Total	33	45,02	23,66	4,12	36,63	53,41	-23,10	79,10

C= grupo control, HC= grupo hipercolesterolemia, A= grupo atorvastatina 10 mg/kg, EC1= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 50mg/kg; EC2= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 200mg/kg; EC3= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 350mg/kg, N =número de ratas por grupo.



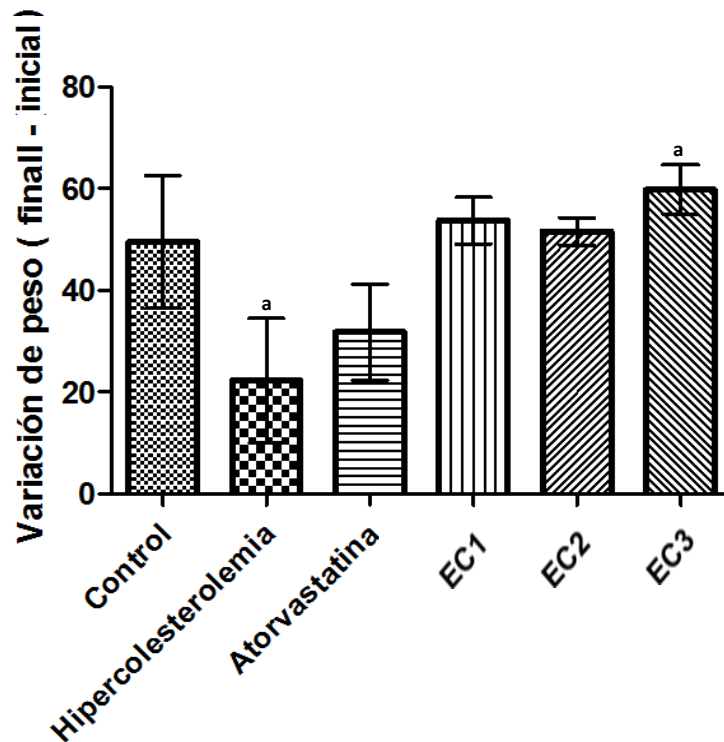


Figura 1. Comparación de las medias de variación de peso entre grupos de ratas Sprague Dawley alimentadas con dietas estándar y modificada (hipercolesterolémica) durante 21 días. Letras iguales encima de las barras representan las medias que fueron significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

Después de los 21 días de experimento, el análisis mediante la prueba ANOVA de una vía, de la variable "Variación de peso" con un IC 95% obtuvo un  $p=0,04$  ( $p < 0,05$ ) y en consecuencia, hubo diferencia significativa, por lo que aplicando el test Post-Hoc de Tukey con un  $p < 0,05$  se encontró diferencia significativa entre los grupos hipercolesterolemia y EC3.

**Tabla 6. Análisis descriptivo de la ingesta de alimentos (g/d) de ratas Sprague Dawley alimentadas con dietas estándar y modificada (hipercolesterolémica) durante 21 días.**

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
<b>Grupo Control</b>	21	14,98	3,56	0,78	13,36	16,60	1,30	19,02
<b>Grupo HC</b>	21	14,69	3,66	0,80	13,02	16,35	1,52	19,42
<b>Grupo A</b>	21	16,00	3,80	0,83	14,27	17,73	0,53	20,09
<b>Grupo EC1</b>	21	15,80	4,13	0,90	13,93	17,68	2,50	20,74
<b>Grupo EC2</b>	21	15,87	4,02	0,88	14,03	17,70	1,14	20,50
<b>Grupo EC3</b>	21	16,42	3,97	0,87	14,61	18,23	1,15	20,13
<b>Total</b>	126	15,63	3,83	0,34	14,95	16,30	0,53	20,74

C= grupo control, HC= grupo hipercolesterolemia, A= grupo atorvastatina 10 mg/kg, EC1= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 50mg/kg; EC2= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 200mg/kg; EC3= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 350mg/kg, N =número total de días.

Los resultados de la ingesta de alimentos (g/d) de ratas Sprague Dawley alimentadas con dietas estándar y modificada (hipercolesterolémica) durante 21 días que se describen en la Tabla 6 fueron sometidos al análisis mediante la prueba paramétrica ANOVA de una vía, y se obtuvo un  $p=0,69$  ( $p>0,05$ ) con un IC 95% y por lo tanto, no se detectaron diferencias significativas entre las medias de los 6 grupos en estudio, tal como se observa en la Figura 19.

**Tabla 7. Análisis descriptivo de la excreción fecal (g/d) de ratas Sprague Dawley alimentadas con dietas estándar y modificada (hipercolesterolémica) durante 21 días.**

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
<b>Grupo Control</b>	21	6,27	1,25	0,27	5,70	6,84	4,40	9,20
<b>Grupo HC</b>	21	11,09	2,34	0,51	10,02	12,16	4,90	14,20
<b>Grupo A</b>	21	11,97	2,66	0,58	10,76	13,18	4,79	16,43
<b>Grupo EC1</b>	21	11,44	3,19	0,70	9,98	12,89	4,50	17,40
<b>Grupo EC2</b>	21	11,95	2,56	0,56	10,78	13,11	7,60	16,20
<b>Grupo EC3</b>	21	11,79	2,32	0,51	10,74	12,85	4,67	15,08
<b>Total</b>	126	10,75	3,15	0,28	10,20	11,31	4,40	17,40

C= grupo control, HC= grupo hipercolesterolemia, A= grupo atorvastatina 10 mg/kg, EC1= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 50mg/kg; EC2= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 200mg/kg; EC3= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 350mg/kg, N =número total de días .

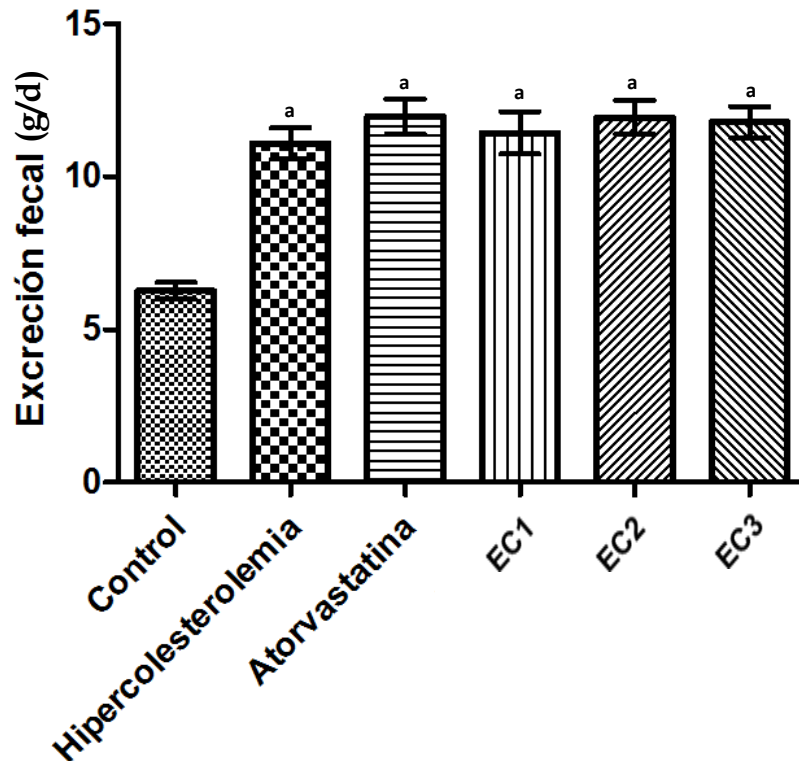


Figura 2. Comparación de las medias de excreción fecal entre grupos de ratas Sprague Dawley alimentadas con dietas estándar y modificada (hipercolesterolémica) durante 21 días. a: medias significativamente diferentes con respecto al grupo control ( $p < 0,05$ ).

Por otro parte, la aplicación de la prueba ANOVA de una vía en la variable “Excreción fecal” mostró diferencia estadísticamente significativa con un  $p < 0,05$  y con IC de 95%. Los pesos fecales fueron significativamente ( $p < 0,05$ ) más bajos en el grupo Control que en el resto de grupos (Hipercolesterolemia, Atorvastatina, EC1, EC2 y EC3).

Tabla 8. Perfil lipídico sérico en ratas Sprague Dawley alimentadas con dietas estándar y modificada (hipercolesterolémica) durante 21 días.

(Valores de media y error estándar para 5 ratas por grupo)

Variables	C		HC		A		EC1		EC2		EC3	
	Media	SE	Media	SE	Media	SE	Media	SE	Media	SE	Media	SE
Colesterol total (g/L)	0,64	0,08	1,13	0,10	1,10	0,05	1,66	0,26	1,23	0,02	1,0	0,09
Colesterol HDL (g/L)†	0,55	0,02	0,25	0,03	0,35	0,02	0,21	0,03	0,26	0,03	0,25	0,01
Colesterol LDL (g/L)††	0,3	0,05	0,69	0,08	0,64	0,03	1,2	0,27	0,73	0,02	0,56	0,05
Triglicéridos (g/L)	0,87	0,09	0,67	0,12	1,06	0,03	0,71	0,1	0,75	0,05	0,61	0,03
Índice de aterogenicidad *	0,16	0,11	4,01	0,33	2,14	0,33	7,68	1,97	4,15	0,8	2,69	0,44

C= grupo control, HC= grupo hipercolesterolemia, A= grupo atorvastatina 10 mg/kg, EC1= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 50mg/kg; EC2= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 200mg/kg; EC3= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 350mg/kg. † HDL: lipoproteína de alta densidad, †† LDL: lipoproteína de baja densidad, \* índice de aterogenicidad = (CT-HDL)/HDL

**Tabla 9. Análisis descriptivo del colesterol total en ratas Sprague Dawley alimentadas con dietas estándar y modificada (hipercolesterolémica) durante 21 días.**

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
<b>Grupo C</b>	5	0,64	0,19	0,08	0,41	0,87	0,46	0,95
<b>Grupo HC</b>	5	1,13	0,21	0,09	0,87	1,39	0,85	1,34
<b>Grupo A</b>	5	1,10	0,11	0,05	0,96	1,24	0,96	1,26
<b>Grupo EC1</b>	5	1,66	0,59	0,26	0,92	2,39	1,03	2,38
<b>Grupo EC2</b>	5	1,22	0,03	0,02	1,18	1,27	1,20	1,28
<b>Grupo EC3</b>	5	0,97	0,21	0,09	0,71	1,22	0,74	1,25
<b>Total</b>	30	1,12	0,40	0,07	0,97	1,27	0,46	2,38

C= grupo control, HC= grupo hipercolesterolemia, A= grupo atorvastatina 10 mg/kg, EC1= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 50mg/kg; EC2= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 200mg/kg; EC3= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 350mg/kg, N =número de ratas por grupo.

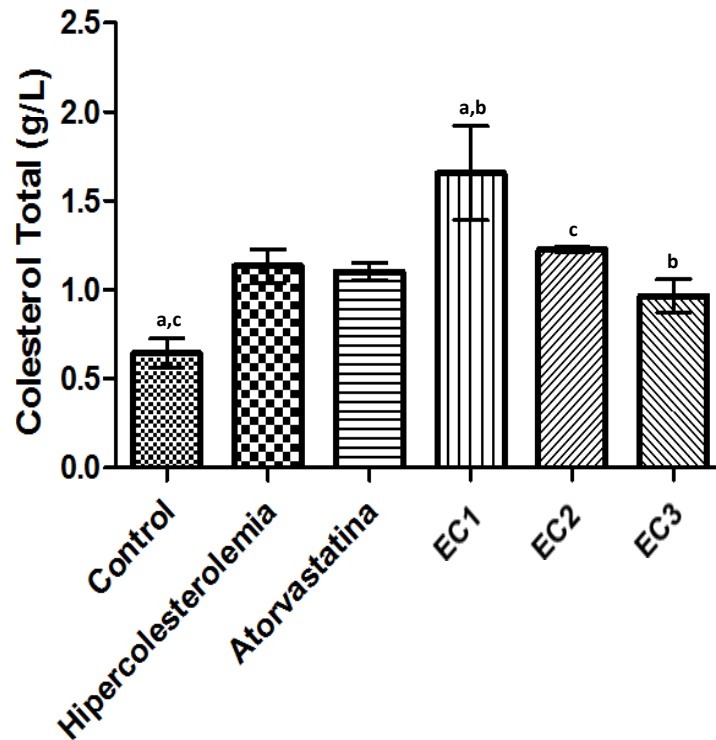


Figura 3. Comparación de las medias de colesterol total sérico entre grupos de ratas Sprague Dawley alimentadas con dietas estándar y modificada (hipercolesterolémica) durante 21 días. a,b,c: letras iguales encima de las barras representan las medias que fueron significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

Dado que la variable "Colesterol total" tuvo distribución normal y además cumplió con el supuesto de homocedasticidad, se aplicó la prueba paramétrica ANOVA de una vía, con la finalidad de comparar las medias de los 6 grupos experimentales. Con un IC 95%, se obtuvo un  $p < 0.05$  y en consecuencia, si hubo diferencia estadísticamente significativa. La prueba Post-Hoc de Tukey mostró que los grupos diferentes entre sí fueron Control-EC1, Control-EC2 y EC1-EC3 con un valor de  $p < 0,05$ .

**Tabla 10. Análisis descriptivo del colesterol HDL en ratas Sprague Dawley alimentadas con dietas estándar y modificada (hipercolesterolémica) durante 21 días.**

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
<b>Grupo C</b>	5	0,55	0,04	0,02	0,50	0,60	0,48	0,60
<b>Grupo HC</b>	4	0,25	0,05	0,03	0,16	0,33	0,20	0,31
<b>Grupo A</b>	5	0,35	0,04	0,02	0,30	0,40	0,32	0,41
<b>Grupo EC1</b>	5	0,21	0,06	0,03	0,14	0,28	0,14	0,28
<b>Grupo EC2</b>	4	0,26	0,07	0,03	0,15	0,36	0,17	0,31
<b>Grupo EC3</b>	4	0,25	0,01	0,01	0,23	0,27	0,23	0,27
<b>Total</b>	27	0,32	0,13	0,03	0,27	0,37	0,14	0,60

HDL: lipoproteína de alta densidad, C= grupo control, HC= grupo hipercolesterolemia, A= grupo atorvastatina 10 mg/kg, EC1= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 50mg/kg; EC2= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 200mg/kg; EC3= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 350mg/kg, N =número de ratas por grupo.



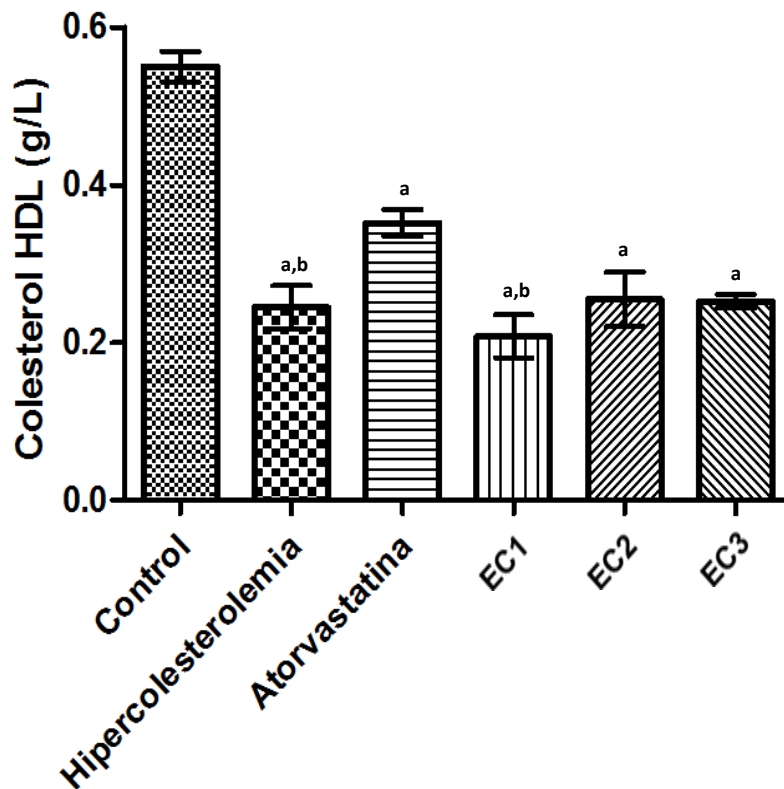


Figura 4. Comparación de las medias de colesterol HDL entre grupos de ratas Sprague Dawley alimentadas con dietas estándar y modificada (hipercolesterolémica) durante 21 días. a: medias de los grupos con diferencias significativas respecto al grupo Control ( $p < 0,05$ ); b: medias de los grupos con diferencias significativas respecto al grupo Atorvastatina ( $p < 0,05$ ).

El análisis de la variable "Colesterol HDL" mediante la prueba paramétrica ANOVA de una vía, detectó diferencias significativas con un IC 95% y un  $p < 0,05$ . Así, con el test Post-Hoc de Tukey se observaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en la concentración de Colesterol HDL entre los grupos Hipercolesterolemia, Atorvastatina, EC1, EC2, EC3 con el grupo Control; entre los grupos Hipercolesterolemia- Atorvastatina; y entre los grupos Atorvastatina- EC1.

**Tabla 11. Análisis descriptivo del colesterol LDL de ratas Sprague Dawley alimentadas con dietas estándar y modificada (hipercolesterolémica) durante 21 días.**

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
<b>Grupo C</b>	5	0,30	0,11	0,05	0,17	0,43	0,19	0,47
<b>Grupo HC</b>	5	0,69	0,18	0,08	0,47	0,91	0,43	0,85
<b>Grupo A</b>	5	0,64	0,07	0,03	0,55	0,72	0,54	0,72
<b>Grupo EC1</b>	5	1,15	0,61	0,27	0,40	1,91	0,61	1,90
<b>Grupo EC2</b>	5	0,73	0,05	0,02	0,66	0,79	0,65	0,78
<b>Grupo EC3</b>	5	0,57	0,12	0,05	0,42	0,71	0,45	0,75
<b>Total</b>	30	0,68	0,36	0,07	0,55	0,81	0,19	1,90

LDL: lipoproteína de baja densidad, C= grupo control, HC= grupo hipercolesterolemia, A= grupo atorvastatina 10 mg/kg, EC1= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 50mg/kg; EC2= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 200mg/kg; EC3= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 350mg/kg, N =número de ratas por grupo.

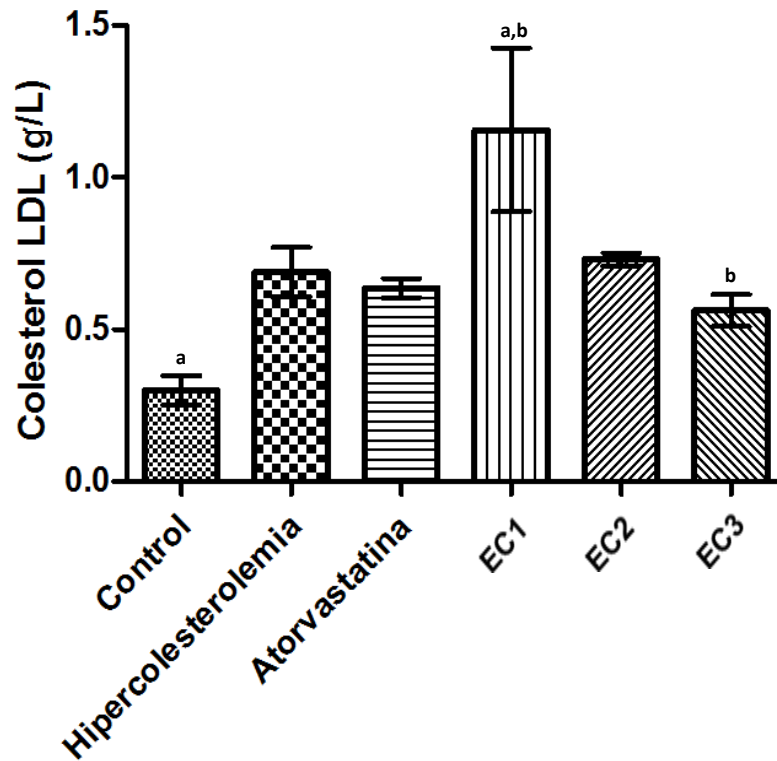


Figura 5. Comparación de las medias de colesterol LDL entre grupos de ratas Sprague Dawley alimentadas con dietas estándar y modificada (hipercolesterolémica) durante 21 días. Letras iguales encima de las barras representan las medias que fueron significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

El análisis estadístico de la variable “Colesterol LDL” con la prueba ANOVA de una vía, detectó diferencias significativas con un IC 95% y un  $p < 0,05$ . Mediante la prueba Post-Hoc de Tukey fueron observadas diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en la concentración de colesterol LDL entre el grupo Control y el grupo EC1; y entre el grupo EC1 y el grupo EC3.

**Tabla 12. Análisis descriptivo de triglicéridos séricos de ratas Sprague Dawley alimentadas con dietas estándar y modificada (hipercolesterolémica) durante 21 días.**

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
<b>Grupo C</b>	5	0,87	0,19	0,08	0,64	1,10	0,58	1,11
<b>Grupo HC</b>	5	0,67	0,26	0,12	0,35	0,10	0,28	0,95
<b>Grupo A</b>	5	1,06	0,07	0,03	0,98	1,14	0,97	1,13
<b>Grupo EC1</b>	5	0,71	0,22	0,10	0,44	0,98	0,54	0,96
<b>Grupo EC2</b>	5	0,75	0,12	0,05	0,61	0,90	0,59	0,90
<b>Grupo EC3</b>	5	0,61	0,07	0,03	0,53	0,69	0,55	0,70
<b>Total</b>	30	0,78	0,22	0,04	0,70	0,86	0,28	1,13

C= grupo control, HC= grupo hipercolesterolemia, A= grupo atorvastatina 10 mg/kg, EC1= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 50mg/kg; EC2= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 200mg/kg; EC3= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 350mg/kg, N =número de ratas por grupo.

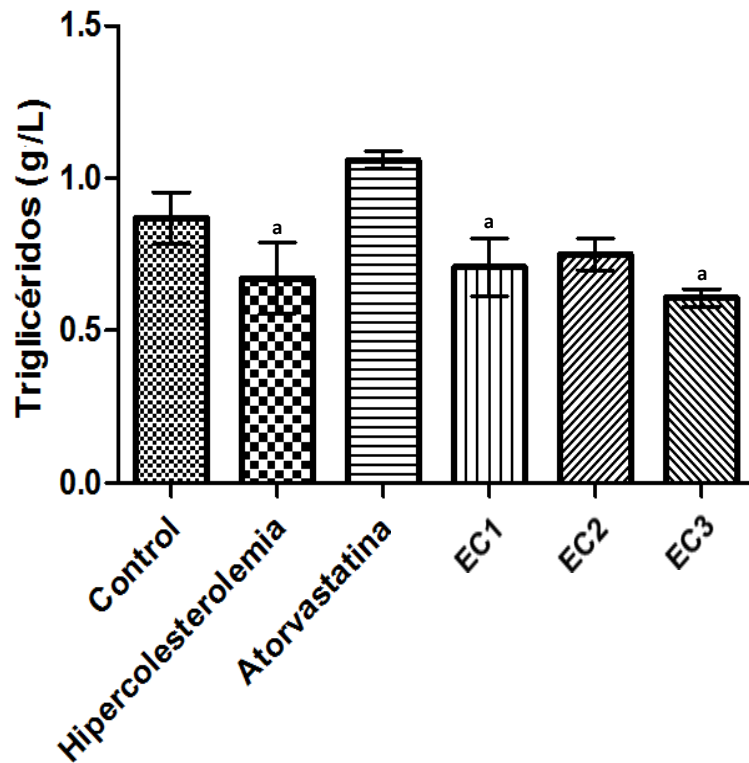


Figura 6. Comparación de las medias de triglicéridos séricos entre grupos de ratas Sprague Dawley alimentadas con dietas estándar y modificada (hipercolesterolemia) durante 21 días. a: medias significativamente diferentes con respecto al grupo Atorvastatina ( $p < 0,05$ )

Dado que la variable “Triglicéridos” cumplió con los criterios de normalidad y homocedasticidad, se utilizó la prueba paramétrica ANOVA de una vía, encontrándose diferencia estadísticamente significativa con un valor  $p < 0,05$  y un IC 95%. Aplicando el test Post-Hoc de Tukey se detectó que las diferencias estuvieron entre el grupo Hipercolesterolemia y el grupo Atorvastatina; entre el grupo Atorvastatina y el grupo EC1; y entre el grupo Atorvastatina y el grupo EC3.

**Tabla 13. Análisis descriptivo del índice de aterogenicidad\* de ratas Sprague Dawley alimentadas con dietas estándar y modificada (hipercolesterolémica) durante 21 días.**

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
<b>Grupo C</b>	5	0,33	0,15	0,07	0,15	0,52	0,20	0,57
<b>Grupo HC</b>	4	3,99	0,63	0,32	2,99	5,00	3,24	4,78
<b>Grupo A</b>	5	2,07	0,61	0,27	1,32	2,83	1,60	3,00
<b>Grupo EC1</b>	5	7,65	4,39	1,96	2,19	13,10	3,46	14,45
<b>Grupo EC2</b>	4	4,11	1,52	0,76	1,68	6,53	2,87	6,03
<b>Grupo EC3</b>	4	2,70	0,88	0,44	1,30	4,09	1,95	3,84
<b>Total</b>	27	3,43	3,08	0,59	2,21	4,65	-0,03	14,45

\*Índice de aterogenicidad = (Colesterol total – HDL) / HDL , C= grupo control, HC= grupo hipercolesterolemia, A= grupo atorvastatina 10 mg/kg, EC1= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 50mg/kg; EC2= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 200mg/kg; EC3= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 350mg/kg, N =número de ratas por grupo.

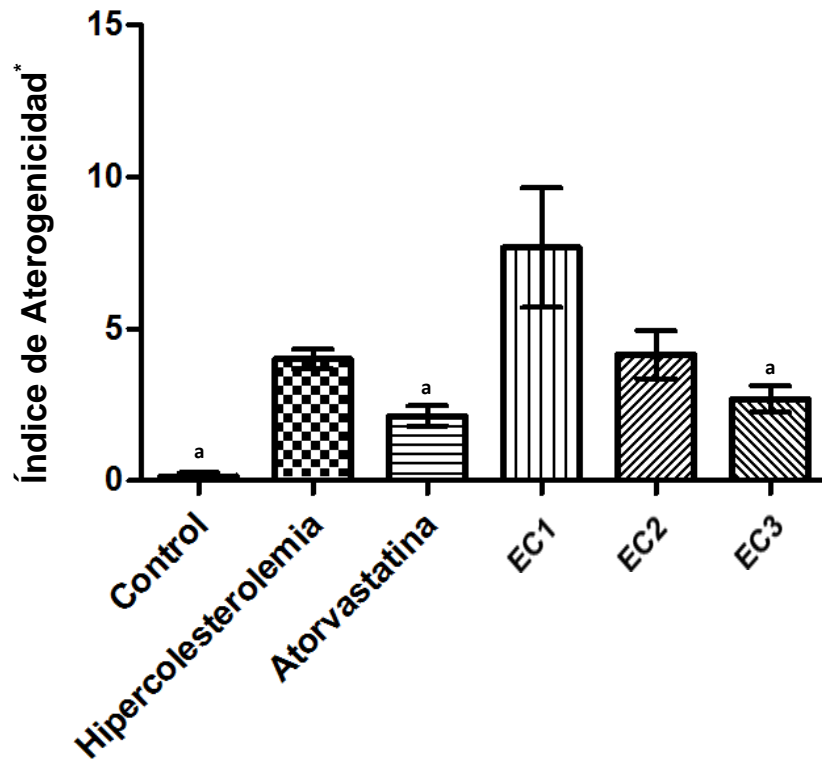


Figura 7. Comparación de las medias del índice de aterogenicidad\* entre grupos de ratas Sprague Dawley alimentadas con dietas estándar y modificada (hipercolesterolémica) durante 21 días. a: medias significativamente diferentes con respecto al grupo EC1 ( $p < 0,05$ ). \* Índice de aterogenicidad:  $(\text{Colesterol total} - \text{Colesterol HDL}) / \text{Colesterol HDL}$ .

En este estudio, la variable “Índice de aterogenicidad”, un posible indicador de predisposición a enfermedad cardiovascular (ECV), fue analizada con la prueba paramétrica ANOVA de una vía, hallándose un valor  $p < 0,05$  con IC 95%, y por tanto con diferencia significativa entre las medias de los grupos. Aplicando el test Post-Hoc de Tukey se detectó que las diferencias significativas estuvieron entre el grupo control y el grupo EC1; entre el grupo Atorvastatina y el grupo EC1; y entre el grupo EC1 y el grupo EC3.

Tabla 14. Pruebas de capacidad antioxidante sérica en ratas Sprague Dawley alimentadas con dietas estándar y modificada (hipercolesterolémica) durante 21 días. (Valores de media y error estándar para 5 ratas por grupo)

Variables			C		HC		A		EC1		EC2		EC3	
			Media	SE	Media	SE	Media	SE	Media	SE	Media	SE	Media	SE
FRAP	(Eq. $\mu\text{mol}$		5,68	0,86	9,48	0,38	8,84	0,71	8,95	0,41	8,36	0,46	11,53	0,92
Vitamina C/dL suero) *														
ABTS	(Eq. $\mu\text{g}$ Trolox/dL		326,79	25,4	303,43	11,04	332,93	11,79	315,86	12,31	338,29	23,21	298,5	11,51
suero) **														

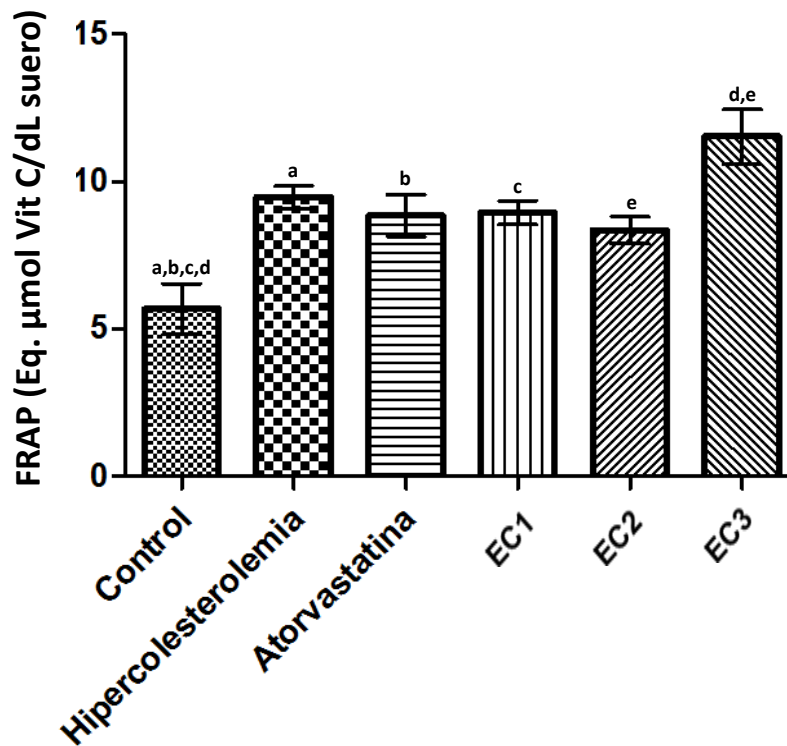
C= grupo control, HC= grupo hipercolesterolemia, A= grupo atorvastatina 10 mg/kg, EC1= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 50mg/kg; EC2= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 200mg/kg; EC3= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 350mg/kg, \* FRAP: *Ferric Reducing Ability of Plasma*, \*\* ABTS: ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico.



Tabla 15. Análisis descriptivo de FRAP \* (Eq.  $\mu\text{mol}$  Vitamina C/dL suero) de ratas Sprague Dawley alimentadas con dietas estándar y modificada (hipercolesterolémica) durante 21 días.

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%			
					Límite inferior	Límite superior	Mínimo	Máximo
Grupo C	5	5,68	1,91	0,86	3,30	8,05	4,39	9,00
Grupo HC	5	9,48	0,86	0,38	8,41	10,54	8,06	10,33
Grupo A	5	8,84	1,58	0,71	6,89	10,80	7,11	10,44
Grupo EC1	5	8,94	0,92	0,41	7,81	10,08	7,56	10,11
Grupo EC2	5	8,36	1,02	0,45	7,09	9,62	7,22	9,89
Grupo EC3	5	11,50	1,59	0,71	9,52	13,48	9,39	13,61
Total	30	8,80	2,15	0,39	8,00	9,60	4,39	13,61

C= grupo control, HC= grupo hipercolesterolemia, A= grupo atorvastatina 10 mg/kg, EC1= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 50mg/kg; EC2= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 200mg/kg; EC3= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 350mg/kg, N =número de ratas por grupo, \* FRAP: *Ferric Reducing Ability of Plasma*.



**Figura 8.** Comparación de las medias de capacidad antioxidante mediante FRAP entre grupos de ratas Sprague Dawley alimentadas con dietas estándar y modificada (hipercolesterolémica) durante 21 días. Letras iguales encima de las barras representan las medias que fueron significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

Dado que la variable “FRAP” tuvo distribución normal y además cumplió con el supuesto de homocedasticidad, se aplicó la prueba paramétrica ANOVA de una vía, con la finalidad de comparar las medias de los 6 grupos en estudio. Con un IC 95%, se obtuvo un  $p < 0,05$  y en consecuencia, si hubo diferencia estadísticamente significativa. Asimismo, con el test Post-Hoc de Tukey se observaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los grupos Hipercolesterolemia, Atorvastatina, EC1, EC3 con el grupo Control; y entre los grupos EC2-EC3.

**Tabla 16. Análisis descriptivo de ABTS \* (Eq. µg Trolox/dL suero) de ratas Sprague Dawley alimentadas con dietas estándar y modificada (hipercolesterolémica) durante 21 días.**

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
<b>Grupo C</b>	5	326,79	56,85	25,42	256,20	397,37	251,07	391,43
<b>Grupo HC</b>	5	303,43	24,68	11,04	272,79	334,07	267,86	335,00
<b>Grupo A</b>	5	332,93	26,36	11,79	300,20	365,65	299,64	352,50
<b>Grupo EC1</b>	5	315,86	27,51	12,30	281,70	350,02	290,36	356,79
<b>Grupo EC2</b>	5	338,29	51,91	23,22	273,83	402,74	296,43	424,64
<b>Grupo EC3</b>	5	298,50	25,74	11,51	266,54	330,46	254,64	318,57
<b>Total</b>	30	319,30	37,64	6,87	305,24	333,35	251,07	424,64

C= grupo control, HC= grupo hipercolesterolemia, A= grupo atorvastatina 10 mg/kg, EC1= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 50mg/kg; EC2= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 200mg/kg; EC3= grupo extracto de *Capsicum baccatum* 350mg/kg, N =número de ratas por grupo. \* ABTS: ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico

El análisis estadístico de la variable "ABTS" mediante la prueba paramétrica ANOVA de una vía, no observó diferencias significativas entre las medias de los grupos con un valor  $p=0,49$  y con IC 95%. (Ver Figura 20)

Tabla 17. Resumen de variables y análisis de varianza (ANOVA).

ANOVA	p	Valoración de la prueba
Variación de peso	<0,05	Significativo
Ingesta de alimentos	0,69	No significativo
Excreción fecal	<0,05	Significativo
Colesterol total	<0,05	Significativo
Colesterol HDL †	<0,05	Significativo
Colesterol LDL ††	<0,05	Significativo
Triglicéridos	<0,05	Significativo
Índice de aterogenicidad ¥	<0,05	Significativo
FRAP *	<0,05	Significativo
ABTS **	0,49	No significativo

† HDL: lipoproteína de alta densidad, †† LDL: lipoproteína de baja densidad, ¥ índice de aterogenicidad = (CT-HDL)/HDL , \* FRAP: *Ferric Reducing Ability of Plasma*, \*\* ABTS: ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico

## **DISCUSIÓN**

Está bien establecido que una dieta rica en vegetales y frutas puede reducir las enfermedades cardiovasculares. (31) (32) (33) (90) En los últimos años, hay un marcado interés en estudiar las propiedades antioxidantes y antiinflamatorias de plantas en términos de su potencial funcionalidad para la salud a través de la acción contra procesos patológicos. (34) Muchos de los componentes de estas plantas, como por ejemplo los carotenoides y flavonoides, han sido estudiados por inhibir el proceso de inflamación en animales, (91) o por otro lado también se ha estudiado el potencial antioxidante. (7) (92) Así podrían proteger contra patologías como hiperlipidemia y aterosclerosis, estrechamente relacionadas a inflamación y estrés oxidativo. (74) (75) Previamente un estudio experimental en roedores reveló que la administración de extracto de *Capsicum Baccatum* tenía efecto antiinflamatorio en modelos experimentales de pleuritis y peritonitis (93), lo cual fue corroborado en otro ensayo con un modelo animal de pleuritis (7), además de encontrarse capacidad antioxidante *in vitro* mediante método DPPH en muestras de extracto de *Capsicum Baccatum*. (7)

En el presente estudio, el grupo hipercolesterolemia (H) obtuvo una menor ganancia de peso corporal final en comparación a los demás grupos, pero ésta solo fue estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) comparada con el grupo que recibió extracto de *Capsicum baccatum* a dosis 350 mg/kg (EC3). Wroblewska *et al* (82) obtuvieron resultados similares encontrando que la disminución del peso corporal final de ratas machos fue influenciado significativamente por la suplementación con dieta alta en colesterol; asimismo, en el estudio realizado por Dänicke *et al* (94), se observó que pollos machos alimentados con una dieta grasa provocó disminución de los pesos corporales de las aves. En contraste, los experimentos de Moundras *et al* (95) y Fassini *et al* (27), con dietas modificadas mediante la adición de 0.3% y 1% de colesterol respectivamente, no cambiaron significativamente los pesos corporales finales de las ratas.

En nuestro estudio, mediante la administración de extracto de *Capsicum baccatum* a dosis de 50 mg/kg, 200 mg/kg y 350 mg/kg, no se observó disminución en la ganancia de peso corporal; en contraposición a los experimentos de Saito *et al* (96) y Kim *et al* (97), que encontraron reducción en la ganancia de peso y grasa corporal con extractos de *Capsicum annuum*, en humanos y modelos animales experimentales, respectivamente.

Por otro lado no se encontraron diferencias significativas ( $p=0,69$ ) al analizar la variable ingesta de alimentos, lo que claramente indica que los 6 grupos en estudio comieron cantidades similares de la dieta durante todo el experimento.

Durante los 21 días que duró el experimento la excreción fecal fue significativamente más baja ( $p<0.05$ ) en las ratas del grupo control (C) que las de los 5 grupos restantes: hipercolesterolemia (HC), atorvastatina 10 mg/kg (A), extracto de *Capsicum baccatum* 50mg/kg (EC1), extracto de *Capsicum baccatum* 200mg/kg (EC2) y extracto de *Capsicum baccatum* 350mg/kg (EC3). Además se observó que las ratas del grupo control realizaron heces bien formadas (Figura 15), de manera análoga al tipo 4 de la escala de heces de Bristol (Figura 17) (98), en tanto que en los demás grupos se evidenció la presencia de deposiciones semilíquidas, análogas a los tipos 6 y 7 de la escala mencionada (Figura 16). No se determinó ácidos biliares excretados ni colesterol fecal.

En el estudio realizado por Aizawa *et al* (3) se encontró que el peso fecal de las ratas, a las que se les administró extractos de *Capsicum annum*, fue significativamente mayor que el grupo control; atribuyéndose así tal efecto a la fibra presente en los extractos. Asimismo Cummings *et al* (99), han reportado que la administración de fibra dietética resulta en un incremento dosis-dependiente del peso fecal.

Dada la presencia anormal de heces semilíquidas (Figura 16), durante las 3 semanas que duró el experimento, en los 5 grupos a los que se administró dieta hipercolesterolémica, se puede especular que la administración dietética de colesterol al 1% y de ácido cólico al 0.5% podría haber inducido intolerancia gastrointestinal. Seitz *et al* (100) reportaron que la administración oral en ratas

de ácido quenodesoxicólico al 1 %, el cual es el ácido biliar primario más abundante junto al ácido cólico en humanos, puede ocasionar diarrea frecuentemente como efecto secundario. De la misma manera Kirwan *et al* (101) describieron resultados similares con ácidos biliares en conejos y Bajor *et al* (102), en humanos. Por otra parte Veiga *et al* (103) describieron en su estudio que con dietas suplementadas con colesterol se puede encontrar intolerancia gastrointestinal como efecto secundario tanto en ratas diabéticas y no- diabéticas.

Cabe mencionar que se ha reportado que las estatinas pueden causar diarrea como efecto secundario, tal como señalan Akiba *et al* (104) en un ensayo experimental con ratas Wistar utilizando distintas dosis orales de un inhibidor de 3-hidroxi-3metilglutaril-CoA reductasa; y en ese mismo contexto otros estudios, con participantes humanos, han evidenciado diarrea como reacción adversa durante terapia con estatinas. (105) (106) (107)

Por otra parte, es interesante ver que el peso corporal ganado de las ratas de los tres grupos que recibieron extractos de *Capsicum baccatum* (EC1, EC2 y EC3) fue similar al grupo control (C), tal como se observa en la Figura 1, a pesar que los tres grupos mencionados mostraron una elevada excreción fecal (Figura 2) y además, habiendo ingerido cantidades similares del alimento proporcionado (Figura 19). Todo ello en contraste con lo sucedido en los grupos hipercolesterolemia (HC) y atorvastatina 10 mg/kg (A), que si tuvieron disminución en la ganancia de peso corporal así como excreción fecal aumentada. La razón de la discrepancia en estos resultados para que los elevados niveles de excreción fecal no se correlacionen con una disminución en la ganancia de peso en estos tres grupos no está clara, pero probablemente se deba a la injerencia de algún componente del extracto de *Capsicum baccatum*.

En el presente trabajo se utilizó colesterol al 1% y ácido cólico al 0.5% en una dieta peletizada y administrada *ad libitum* para inducir hipercolesterolemia, lográndose elevar el colesterol total, colesterol LDL y disminuir el colesterol HDL, aunque solo hubo diferencias significativas en algunos grupos. Llama la atención que el grupo hipercolesterolemia (control positivo) incrementara en un 76% con respecto al grupo control pero sin alcanzar diferencias estadísticas significativas, toda vez

que varios ensayos experimentales muestran que la suplementación dietética con colesterol durante tres a ocho semanas ejerce efecto hipercolesterolémico significativo en ratas a concentraciones de 0.25% (2.5 g/kg dieta), 0.5% (5 g/kg dieta), 1% (10 g/kg dieta) y 3% (30 g/kg dieta) (27) (82) (85) (86) (108); proporciones incluso mucho más altas que las cantidades de colesterol consumidas por humanos, usualmente menores a 0.05 % (109) o menos de 300 mg/día. (110)

Es interesante observar el incremento significativo ( $p<0.05$ ) del colesterol total sérico en los grupos EC1 y EC2 con respecto al grupo control, aunque el aumento es más notorio en el grupo EC1 (Figura 3). Asimismo, se observa un incremento del colesterol total, en relación inversa a la dosis administrada de *Capsicum baccatum*, llegando a ser significativa entre el grupo EC3 y el grupo EC1. El grupo de mayor dosis de extracto de *Capsicum baccatum* (350 mg/kg) produjo una disminución significativa ( $p<0.05$ ) del colesterol total sérico comparado al grupo que recibió 50 mg/kg (EC1).

Varios estudios con *Capsicum annuum* han mostrado reducción en los valores de colesterol total en modelos experimentales con ratas, ratones, conejos y hámsters (4) (97) (111) (112); y en esta misma línea de investigación Campillo *et al* (113) y Ahuja *et al* (114) han coincidido al encontrar los mismos hallazgos en diseños experimentales con participantes humanos. Por el contrario Lee *et al* (115) fueron los únicos en reportar que la administración de capsaicina purificada de *Capsicum* no tuvo efecto notificable en el nivel de colesterol total, aunque si reportaron disminución significativa de colesterol LDL además de incremento de colesterol HDL. Al no existir antecedentes, a nuestro conocimiento, de estudios *in vivo* con *Capsicum baccatum*, se utilizaron dosis arbitrarias para nuestro experimento, por lo que consecuentemente, y en relación a nuestros hallazgos, es posible especular que dosis mayores podrían tener mejor eficacia.

Las estatinas, como la atorvastatina, han demostrado causar disminución del colesterol total sérico en múltiples ensayos experimentales en animales (27) (87), y son el grupo farmacológico estándar en el tratamiento actual de la hipercolesterolemia. (29) Así, es posible especular que la causa de la



ineficacia con la atorvastatina (Lipitor ®) utilizada en nuestro estudio, se deba a que solo se administró durante 3 semanas, o tal vez a factores que no se lograron elucidar, tomando en cuenta que la dosis utilizada (10 mg/kg de peso) es ampliamente usada en varios estudios con ratas (87), y que por otra parte dichos estudios suelen tomar más tiempo experimental (en promedio 4 semanas).

Al analizar el colesterol HDL, tal como se muestra en la Figura 4, se observa una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) de los niveles de todos los grupos experimentales con respecto al grupo control. Estos hallazgos son contrarios a lo reportado por Aizawa *et al* (3), con la especie *Capsicum annuum*, quienes encuentran elevación de los niveles plasmáticos de colesterol HDL en ratas Wistar mediante la administración oral de extractos de éste fruto, así como del carotenoide capsantina que fue purificado de la especie en mención. Asimismo estos estudios coinciden con los de Lee *et al* (115) que demostraron incremento del colesterol HDL en ratas tratadas con capsaicina derivada de *Capsicum*. Por otro lado Liang *et al* (111) encontraron que la administración de capsaicinoides derivados del fruto de *Capsicum* no afectó el nivel de colesterol HDL en hámsters. No hay, a nuestro saber, otros reportes que evalúen la relación entre colesterol HDL y *Capsicum*.

Adicionalmente, el nivel de colesterol HDL en el grupo atorvastatina (A) fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) con respecto a los grupos hipercolesterolemia (HC) y extracto de *Capsicum baccatum* 50 mg/kg (EC1). Las estatinas, entre ellas la atorvastatina, han demostrado tener este efecto en varios trabajos. (27) (87)

Asimismo, al evaluar el colesterol LDL se encontró, en relación al grupo control (C), una elevación en un 129%, 111%, 284%, 142% y 88% de los grupos hipercolesterolemia (HC), atorvastatina 10 mg/kg (A), extracto de *Capsicum baccatum* 50 mg/kg (EC1), extracto de *Capsicum baccatum* 200 mg/kg (EC2) y extracto de *Capsicum baccatum* 350 mg/kg (EC3), respectivamente; pero únicamente hubo diferencias significativas con el grupo EC1 ( $p < 0.05$ ). (Figura 5)

Kim *et al* (97) han reportado actividad hipocolesterolémica con extracto de *Capsicum*, al lograr disminuir el colesterol LDL en un modelo animal con ratones C57BL/6 alimentados con dieta alta en grasa; igualmente Lee *et al* (115) encontraron colesterol LDL disminuido luego de administración intraperitoneal de capsaicina purificada de *Capsicum annum* en ratas Wistar, sugiriendo un potencial antioxidante de este componente.

Por otro lado, en esta misma fracción se observó el mismo perfil de comportamiento que en el análisis del colesterol total, hallándose una reducción significativa ( $p < 0.05$ ) del colesterol LDL en el grupo *Capsicum baccatum* 350 mg/kg (EC3) con respecto al grupo *Capsicum baccatum* 50 mg/kg (EC1), encontrándose así una tendencia a la disminución con mayores dosis del extracto. Del mismo modo podría sugerirse que con la administración de dosis más altas podría haber mejor efecto.

Con respecto a los triglicéridos, en nuestro estudio se observó que el nivel de triglicéridos plasmáticos, tal como se muestra en la Figura 6, no mostró aumento en ninguno de los grupos, a excepción del grupo atorvastatina (A) que si mostró elevación significativa ( $p < 0,05$ ) de triglicéridos con respecto a los grupos hipercolesterolemia (HC), extracto de *Capsicum baccatum* 50 mg/kg (EC1) y extracto de *Capsicum baccatum* 350 mg/kg (EC3).

Varios estudios como el de Wroblewska *et al* (82) y Yokogoshi *et al* (83) muestran que el nivel de triglicéridos séricos después de una dieta alta en colesterol se mantiene sin cambios en comparación con el grupo control. Por otro lado, trabajos como el de Fassini *et al* (27), Arroyo *et al* (116) y Fungwe *et al* (117) documentan que las ratas alimentadas con dieta alta en colesterol muestran aumento significativo en el nivel de triglicéridos.

También puede notarse, en relación al grupo control (C), una disminución en un 30% de la media de triglicéridos séricos del grupo con extracto de *Capsicum baccatum* 350 mg/kg (EC3), aunque no es estadísticamente significativa. Campillo *et al* (113) y Gupta *et al* (4) reportaron en sus trabajos que la administración de extractos de *Capsicum annum* ejerce efecto hipotrigliceridémico

significativo en humanos y gerbiles, correspondientemente. Por otra parte Ahuja *et al* (114) y Aizawa *et al* (3) mostraron que la administración oral de *Capsicum annuum* no provoca disminución significativa de los triglicéridos séricos en humanos y ratas Wistar, respectivamente. Consecuentemente, y en lo que respecta a nuestros resultados, podemos inferir que los extractos de *Capsicum baccatum* tuvieron efecto hipotrigliceridémico parcial, dado que no fue significativo, y nos permite especular una vez más que mayores dosis podrían tener mayor significancia.

Por otra parte, Vondrakova *et al* (118) reportaron un aumento de los triglicéridos séricos en terapia aguda con atorvastatina en humanos, lo que podría explicar parcialmente el efecto paradójico encontrado en nuestro estudio con el grupo atorvastatina (A), aunque a nuestro conocimiento, no hay datos suficientes que apoyen esta hipótesis tomando en cuenta que varios diseños experimentales han mostrado el efecto hipotrigliceridémico de las estatinas. (27) (87) (119)

Está bien establecido que el hígado regula los niveles de triglicéridos y colesterol mediante secreción y transporte de estos lípidos en las partículas de VLDL (*very low density lipoprotein*), y que éstas se convierten en LDL al eliminarse los componentes triglicéridos y la apoproteína C. (120) Estudios como los de Fungwe *et al* (117) (121) reportan que la administración de dieta alta en colesterol en ratas eleva significativamente los triglicéridos séricos así como LDL y VLDL; y en ese mismo sentido se ha confirmado la estrecha relación entre los triglicéridos y VLDL a través de polimorfismos genéticos de APOA5 -1131T>C en humanos.(122) De lo mencionado se desprende una posible explicación de la disminución de triglicéridos séricos y colesterol LDL en el grupo extracto de *Capsicum baccatum* 350 mg/kg (EC3) con respecto al grupo hipercolesterolemia (HC) en un 18% y 10%, respectivamente, aunque no de manera significativa; asimismo pensamos que una alteración en la cantidad y duración de la administración del extracto de *Capsicum baccatum* puede aclarar notoriamente estas observaciones.

Los resultados muestran que el índice de aterogenicidad del grupo extracto de *Capsicum baccatum* 50mg/kg (EC1) fue mayor significativamente ( $p<0.05$ ) que los valores de los grupos control (C), atorvastatina (A) y extracto de *Capsicum baccatum* 350mg/kg (EC3). Los resultados se muestran

en la Figura 7. Contrariamente a este hallazgo, Kwon *et al* (112) encontraron un índice de aterogenicidad disminuido de forma significativa en conejos alimentados con dieta alta en colesterol y mediante la administración de extracto de *Capsicum annuum*. En nuestro estudio no se logró reducir significativamente el índice de aterogenicidad mediante la administración de extractos de *Capsicum baccatum*, aunque por otro lado se puede observar una propensión a disminuir conforme se aumenta la dosis, y en ese mismo sentido se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre la administración de extractos de *Capsicum baccatum* a dosis de 50 mg/kg (EC1) y 350 mg/kg (EC3), pero no con la dosis 200 mg/kg (EC2). Así, se puede postular que mayores dosis podrían ejercer un efecto significativo respecto al grupo control.

El hallazgo, en nuestro estudio, del aumento en los valores de colesterol total, colesterol LDL e índice de aterogenicidad en el grupo extracto de *Capsicum baccatum* 50 mg/kg es, a nuestro parecer, debido a la probable injerencia de algún factor no elucidado, y no por causa del extracto. Todo esto tomando en cuenta que no se observa una relación directa dosis-respuesta, sino todo lo contrario, una relación inversa; además en los trabajos realizados con la especie *Capsicum annum* no se han reportado incrementos en dichas variables. La respuesta de acuerdo a la dosis no mostró una respuesta clásica monotónica, la respuesta fue de tipo no-monotónica que corresponde a la llamada “hipótesis de dosis bajas” (*low dose hypothesis*), propuesta actualmente en estudio y que ha sido recibida con cautela en el ámbito científico. (123) (124) Cabe mencionar que nuestro trabajo utilizó extractos, y los estudios mencionados, compuestos puros.

Observando la tendencia a la disminución en las medias de colesterol total, colesterol LDL e índice de aterogenicidad de los grupos extracto de *Capsicum baccatum* 50 mg/kg (EC1), extracto de *Capsicum baccatum* 200 mg/kg (EC2) y extracto de *Capsicum baccatum* 350 mg/kg (EC3), y tomando en cuenta que las variables ingesta de alimentos, variación de peso y excreción fecal de estos mismos grupos no mostraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ), además de la pequeña variabilidad en los resultados; se puede especular que probablemente esta tendencia no se deba a una interferencia del extracto de *Capsicum baccatum* en la absorción intestinal de colesterol

exógeno, sino que implicaría otras vías. El mecanismo exacto por el cual el extracto de *Capsicum baccatum* podría causar estos hallazgos no puede ser aclarado mediante nuestro estudio, pero la observación de las variables mencionadas sugiere que podría actuar afectando el metabolismo intrínseco de colesterol, por ejemplo elevando la expresión hepática de RNAm para CYP7 $\alpha$ -1 (enzima que aumenta la conversión de colesterol en ácidos biliares), o aumentando la expresión hepática de LDL-R (receptores de LDL), como se demuestra en estudios con otro tipo de plantas. (81)

Es importante mencionar que al segundo día del experimento se observó, en todos los grupos, signos clínicos compatibles con un proceso infeccioso respiratorio agudo (125): disnea, tinción de porfirina alrededor de ojos y boca, cabeza inclinada, inactividad (Figura 18), que duró aproximadamente 7 días y que, a nuestro parecer, fue la causa de la muerte de algunas de las ratas de los grupos control (C), hipercolesterolemia (H) y atorvastatina (A). Así, es fundamental tomar con cuidado los resultados de nuestro estudio puesto que el estrés al que estuvieron sometidas las ratas pudo causar alteraciones, como las señaladas por Powanda *et al* (126) que reportaron aumento en la síntesis hepática de proteínas plasmáticas durante infección causada por *Streptococcus pneumoniae* en ratas, o como el estudio de Little *et al* (127) que por ejemplo señalan disminución en la formación de albúmina sérica en sepsis neumocócica de ratas.

Durante el experimento, las ratas que fueron tratadas oralmente con el extracto de *Capsicum Baccatum* a dosis entre 50-350 mg/kg/día no presentaron mortalidad, esto indica que a estas dosis el extracto tiene un buen margen de seguridad. No hay, a nuestro conocimiento, estudios de toxicidad con *Capsicum baccatum* que nos sirvan de referencia, pero si con *Capsicum annumm* que muestran dosis seguras con 2948 mg/kg/día en ratas F344 y dosis letal media (DL50) con dosis de 11250 mg/kg/día en ratas Wistar. (128)

La hipercolesterolemia conduce al aumento de la producción de radicales libres de oxígeno, los que ejercen su efecto citotóxico causando peroxidación lipídica con la formación de malondialdehído (MDA). Los niveles elevados de productos de peroxidación lipídica pueden ser

responsables de algunos de los efectos patológicos de la hiperlipidemia. La oxidación del colesterol LDL, así como colesterol LDL *per se*, juegan un papel importante en la patogénesis de las condiciones ateroscleróticas. LDL es oxidado por  $\text{Cu}^{+2}$ , resultando en la formación de peróxidos. Adicionalmente, el LDL oxidado (Ox-LDL) contribuye en diversas etapas ateroscleróticas, no sólo en la formación de células espumosas a través de su ingreso mediado por receptores *scavenger*, sino también en la actividad quimiotáctica directa hacia monocitos, células del músculo liso, y linfocitos T, inhibición de actividad biológica, producción de óxido nítrico derivado del endotelio, e inducción de citotoxicidad; conduciendo todo a injuria endotelial. No hay duda de que el LDL sometido a modificación oxidativa *in vivo*, y que la inhibición de la oxidación de LDL son importantes para la atenuación de los cambios ateroscleróticos. (129)

Medvedeva *et al* (2) reportaron que los carotenoides derivados de *Capsicum annuum* pueden inhibir eficazmente la oxidación de LDL *in vitro* con probable disminución de las subfracciones de *small dense* LDL (LDL aterogénico) *in vivo*; en ese mismo sentido Sun *et al* (130) encontraron alta actividad antioxidante *in vitro* con extractos de la misma especie mediante método DPPH. De la misma forma Zimmer *et al* (7) y Kappel *et al* (6) encontraron propiedades antioxidantes *in vitro* con extractos de *Capsicum baccatum*.

En ese mismo sentido, dos estudios realizados en sujetos humanos (113) (114) han hallado que la ingestión continua de cantidades moderadas de *Capsicum* puede disminuir significativamente la oxidación de lipoproteínas, principalmente LDL, proceso clave en el desarrollo de aterogénesis.

En la evaluación de la capacidad antioxidante mediante FRAP (*Ferric Reducing Ability of Plasma*) (Figura 8) se encontró que el suero sanguíneo del grupo extracto de *Capsicum baccatum* 350 mg/kg (EC3) exhibió el mayor poder antioxidante, llegando a ser mayor significativamente ( $p < 0,05$ ) que los grupos control (C) y el grupo de extracto de *Capsicum baccatum* 200 mg/kg (EC2). Estos resultados coinciden con los hallazgos de Kappel *et al* (6) que encuentran actividad antioxidante en un ensayo *in vitro* con extractos de *Capsicum baccatum* mediante método TRAP (*total reactive antioxidant potential*) al igual que en un modelo *ex vivo* de hígado de rata, evidenciándose una

correlación positiva con el contenido fenólico total. De la misma forma Zimmer *et al* (7) reportaron actividad antioxidante con extractos del fruto de la misma especie mediante método DPPH, sugiriendo que el alto contenido de flavonoides encontrado podría ser la causa.

Así, a nuestro conocimiento es la primera vez que se encuentra actividad antioxidante con *Capsicum baccatum* en un modelo animal *in vivo*. De esta manera observamos que, a nivel plasmático, la administración oral de extracto hidroalcohólico de *Capsicum baccatum* a dosis de 350 mg/kg fue efectiva en generar la mayor cantidad del complejo TPTZ-Fe<sup>+2</sup>, evidenciándose de forma significativa mayor poder antioxidante que el grupo control y el grupo EC2; asimismo la administración de la dosis EC1 también produjo un aumento significativo de la capacidad antioxidante frente al grupo control ( $p < 0.05$ ).

Por otro lado, también los grupos atorvastatina (A) e hipercolesterolemia (HC) tuvieron mayor poder antioxidante que el grupo control (C). Varias líneas de investigación muestran que las estatinas, entre ellas la atorvastatina, exhiben características antioxidantes en modelos animales experimentales de hipercolesterolemia, e incluso monoartritis. (131) (132) (133) Por lo tanto es posible afirmar que el potencial antioxidante de la atorvastatina es compatible con éste resultado. Por otra parte, no está claro por qué el grupo hipercolesterolemia (HC) mostró capacidad antioxidante aumentada, pero es probable que el ligero menor contenido de calorías en la dieta hipercolesterolémica (Tabla 2), con respecto a la dieta del grupo control (Tabla 1), ocasionara una menor formación de radicales libres, traduciéndose en una mayor capacidad antioxidante. Esta relación es señalada por estudios como el de López-Torres *et al* (134) que describen una menor generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) como consecuencia de la restricción calórica.

En relación a los resultados obtenidos de capacidad antioxidante mediante ABTS no se logró encontrar diferencias significativas entre ninguno de los grupos estudiados. En la actualidad, debido a la complejidad de los procesos de oxidación, no existe un método que refleje de forma completa el perfil antioxidante de una muestra, por tanto, el uso de varios métodos es

complementario en la determinación de la capacidad antioxidante de productos que contengan distintos tipos de antioxidantes.

Varios reportes como el de Rodríguez-Burruezo *et al* (5) señalan que los frutos de *Capsicum baccatum* son recursos ricos en carotenoides, p.e. capsantina, luteína, por lo que podrían tener efectos preventivos de enfermedades cardiovasculares. (45) De la misma manera, de acuerdo a los estudios de Kappel *et al* (6) y Zimmer *et al* (7) el extracto de *Capsicum baccatum* presentaba valores altos de contenido fenólico y flavonoide, incluso mayor a los reportes de otras especies de *Capsicum* (*Capsicum annuum* y *Capsicum frutescens*), éstos ingredientes son conocidos por exhibir propiedades antiinflamatorias y antioxidantes en animales experimentales. (91) (92) Por otra parte los resultados de algunos experimentos, que involucran extractos de *Capsicum baccatum*, han sugerido que la capsaicina puede ser el mayor compuesto responsable de los efectos antiinflamatorios y antioxidantes encontrados. (34) (92) (93)

Hay que tomar en cuenta que pueden haber diferencias en la composición de las variedades de *Capsicum baccatum* de cada región geográfica, en cuanto a contenido fenólico, flavonoides, capsaicinoides, capsinoides, carotenoides, ácido ascórbico, etc. La relativamente poca importancia fuera de la región andina, hasta hace poco, es probablemente la principal razón de esta falta de investigación. En el estudio de Meckelmann *et al* (135), en conjunto con el Instituto Nacional de Innovación Agrícola (INIA), la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM) y el Centro de Investigación y Desarrollo Rural Amazónico (CIDRA), se analizaron variedades peruanas de *Capsicum*, entre ellas *Capsicum baccatum*, encontrándose niveles elevados de capsaicinoides, contenido fenólico total, capacidad antioxidante, flavonoides y vitamina C.

En definitiva, nuestro estudio muestra que las ratas que recibieron extractos de *Capsicum baccatum*, en las tres dosis aplicadas, ganaron peso corporal a pesar de la excreción fecal aumentada. Además, en estos mismos grupos, se observó una disminución en los niveles séricos de colesterol total, colesterol LDL y triglicéridos, así como del índice de aterogenicidad, aunque sin alcanzar valores significativos respecto a los controles. Asimismo, se aprecia reducción en los



niveles de éstas variables, a medida que se aumenta la dosis del extracto. Así, al haber elegido las dosis de manera arbitraria, es posible que mayores dosis logren efectos significativos.

Finalmente, se encontró que la administración de la dosis más alta de *Capsicum baccatum* logró una importante elevación de la capacidad antioxidante sérica evaluada mediante método FRAP.

Como se puede apreciar de todo lo anteriormente señalado, es importante continuar en esta línea de investigación con el fin de esclarecer la eficacia hipocolesterolémica del extracto de *Capsicum baccatum*, así como sus mecanismos de acción.

### **CONCLUSIONES**

1. La administración orogástrica de extracto hidroalcohólico de *Capsicum baccatum*, en ratas alimentadas con dieta hipercolesterolémica, presentó un efecto dual: la dosis de 50 mg/kg aumentó significativamente los valores de colesterol total, colesterol LDL e índice de aterogenicidad, en relación al grupo control; y por otro lado, la concentración de 350 mg/kg produjo una disminución significativa de éstas variables, en relación a la dosis de 50 mg/kg.
2. La administración orogástrica de extracto hidroalcohólico de *Capsicum baccatum* a dosis de 350 mg/kg, en ratas alimentadas con dieta hipercolesterolémica, mostró una reducción del 30% de triglicéridos, con respecto al grupo control.
3. La administración orogástrica de extracto hidroalcohólico de *Capsicum baccatum* a dosis de 50 mg/kg y 350 mg/kg, en ratas alimentadas con dieta hipercolesterolémica, presentó una capacidad antioxidante sérica significativamente mayor en relación a las ratas del grupo control, mediante método FRAP.
4. La administración orogástrica de extracto hidroalcohólico de *Capsicum baccatum*, en tres dosis diferentes (50, 200 y 350 mg/kg), en ratas alimentadas con dieta hipercolesterolémica, mostró una variación de peso similar a las ratas alimentadas con dieta estándar, a pesar que los tres grupos experimentales evidenciaron una excreción fecal aumentada significativamente en relación al grupo control.

### **RECOMENDACIONES**

1. Estudios posteriores podrían utilizar dosis mayores, o como mínimo iguales a 350 mg/kg de extracto hidroalcohólico de *Capsicum baccatum*.
2. Evaluación de los niveles de ácidos biliares y/o colesterol fecal para determinar los efectos del extracto de *Capsicum baccatum* a nivel intestinal.
3. Medición de 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (HMG-CoA reductasa), así como de la expresión hepática de colesterol 7- $\alpha$  hidroxilasa (CYP7 $\alpha$ -1) y receptores de LDL (LDL-R); con la finalidad de determinar posibles mecanismos de acción, del extracto hidroalcohólico de *Capsicum baccatum*, en el metabolismo del colesterol.

### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Castelli W. Epidemiology of coronary heart disease: the Framingham study. Am J Med. 1984; 76(2A): 4-12.
2. Medvedeva NV, Andreenkov VA , Morozkin AD, Sergeeva EA, Prokofev Iul, Misharin Alu. Inhibition of oxidation of human blood low density lipoproteins by carotenoids from paprika. Biomed Khim (Rusia). 2003 Mar-Apr; 49(2):191-200
3. Aizawa K, Inakuma T. Dietary capsanthin, the main carotenoid in paprika (*Capsicum annuum*), alters plasma high density lipoprotein-cholesterol levels and hepatic gene expression in rats. Br J Nutr. 2009; 102: 1760–1766
4. Gupta RS, Dixit VP, Dobhal MP. Hypocholesterolaemic effect of the oleoresin of *Capsicum annuum* L. in Gerbils (*Meriones hurrianae* Jerdon). Phytother Res. 2002; 16: 273–275.
5. Rodriguez-Burruezo A, Gonzalez-Mas M, Nuez F. Carotenoid composition and vitamin A value in aji (*Capsicum baccatum* L.) and rocoto (*C. pubescens* R. & P.), 2 pepper species from the andean region. J Food Sci. 2010; 75(8): 446-453.
6. Kappel V, Costa G, Scola G, Silva F, Landel M, Valente P, et al. Phenolic content and antioxidant and antimicrobial properties of fruits of *Capsicum baccatum* L. var. pendulum at different maturity stages. J Med Food. 2008; 11(2): 267-274.
7. Zimmer A, Leonardi B, Miron D, Schapoval E, Rodrigues de Oliveira J, Gosmann G. Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Capsicum baccatum*: From traditional use to scientific approach. J Ethnopharmacol. 2012; 139: 228– 233
8. Antonious G, Jarret R. Screening Capsicum accessions for capsaicinoids content. J Environ Sci Health B. 2006; 41: 717–729.
9. Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005. Ginebra: OMS; 2002.
10. Ministerio de Agricultura y Riego. Dinámica Agropecuaria 2003-2012. Lima: MINAGRI; 2013.

11. PubMed [base de datos en Internet]. Bethesda: National Library of Medicine; 1966- [fecha de acceso 24 de junio de 2012]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/>
12. SisBib. [base de datos en Internet]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2003- [fecha de acceso 24 de junio de 2012]. Disponible en: <http://catalogo-01.unmsm.edu.pe/>
13. DUGIC. [base de datos en Internet]. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia- [fecha de acceso 24 de junio de 2012]. Disponible en: <http://www.upch.edu.pe/vrinve/dugic/>
14. Anderson GF, Chu E. Expanding priorities-confronting chronic disease in countries with low income. N Engl J Med 2007; 356(3):209-211.
15. Organización Mundial de la Salud. The top 10 causes of death. EE.UU; 2013. [fecha de acceso 30 de diciembre de 2013]. URL disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>
16. American Heart Association. Heart and Stroke Statistical Update. Dallas, Tx: American Heart Association; 2001:1-38.
17. American Heart Association. Heart disease and stroke statistics-2006 update. Dallas, TX: American Heart Association; 2006.
18. Coronary Heart Disease Statistics. London: British Heart Foundation Database, 1998. Disponible en: <http://www.bhf.org.uk>.
19. Huicho *et al.* Mortality profiles in a country facing epidemiological transition: An analysis of registered data. BMC Public Health. 2009; 9:47
20. Velásquez A. La carga de enfermedad y lesiones en el Perú y las prioridades del plan esencial de aseguramiento universal. Rev. perú. med. exp. salud pública (Perú). 2009; 26 (2).
21. Seclén S. Enfermedades crónicas no transmisibles en la población peruana. Rev Med Hered (Perú). 1995; 6(4): 161-162.

22. Segura L, Agusti R, Ruiz E. Factores de riesgo de las enfermedades cardiovasculares en el Perú II. Estudio TORNASOL II comparado con TORNASOL I después de cinco años. *Rev Per Cardiol (Perú)*. 2013; 39(1): 5-59.
23. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. 2004; 364(9438):937-52.
24. Kinosian B, Glick H, Preiss L, Puder K. Cholesterol and coronary heart disease: predicting risks in men by changes in levels and ratios. *J Investig Med*. 1995; 43(5): 443-50.
25. Natarajan S, Glick H, Criqui M, Horowitz D, Lipsitz S, Kinosian B. Cholesterol measures to identify and treat individuals at risk for coronary heart disease. *Am J Prev Med*. 2003; 25(1): 50-7.
26. Aziz N, Mehmood MH, Mandukhal SR, Bashir S, Raoof S, Gilan AH. Antihypertensive, antioxidant, antidyslipidemic and endothelial modulating activities of a polyherbal formulation (POL-10). *Vascul Pharmacol* 2009, 50: 57-64.
27. Fassini P, Noda R, Ferreira E, Silva M, Neves V, Demonte A. Soybean glycinin improves HDL-C and suppresses the effects of rosuvastatin on hypercholesterolemic rats. *Lipids in Health and Disease*. 2011; 10: 165.
28. Rose G, Reid D, Hemilton P, Keen H, Jarret R. Myocardial ischaemia risk factors and death from coronary heart disease. *Lancet*. 1977; 1: 105-109.
29. Stone N, Robinson J, Lichtenstein A, Bairey C, Lloyd-Jones D, Blum C, et al. Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Risk in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2013.
30. Uličná O, Vančová O, Waczulíková I, Božek P, Sikurová L, Bada V, et al. Liver mitochondrial respiratory function and coenzyme q content in rats on a hypercholesterolemic diet treated with atorvastatin. *Physiol. Res*. 2012; 61: 185-193.

31. Kris-Etherton PM, Hecker KD, Bonanome A, Coval SM, Binkoski AE, Hilpert KF, et al. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am J Med.* 2002; 113 (Suppl): S71-88.
32. Stanner SA, Hughes J, Kelly CNM, Buttriss J. A review of the epidemiological evidence for the “antioxidant hypothesis”. *Public Health Nutr.* 2003; 7: 407-422.
33. Rice-Evans C, Miller NJ. Antioxidants-the case for fruit and vegetables in the diet. *Br Food J.* 1995; 97: 35-40.
34. Mueller M, Hobiger S, Jungbauer A. Anti-inflammatory activity of extracts from fruits, herbs and spices. *Food Chem.* 2010; 122: 987–996.
35. Menichini F, Tundis R, Bonesi M, Loizzo MR, Conforti F, Statti G, et al. The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity of *Capsicum chinense* Jacq. cv Habanero. *Food Chem.* 2009; 114: 553–560.
36. Eshbaugh WH, Guttman SI, McLeod M. The origin and evolution of domesticated *Capsicum* species. *J Ethnobiol.* 1983; 3:49–54.
37. DeWitt D. *The Chile pepper Encyclopedia.* New York: Harper Collins; 1999. p.352.
38. Bosland PW, Votava EJ. *Peppers: vegetable and spice Capsicums.* New York: CABI Publishing; 2000. p.204.
39. Rodríguez-Burruezo A, Nuez F. Mejora de la calidad en el pimiento. En: Llácer G, Díez MJ, Carrillo JM, Badenes ML (editores). *Mejora genética de la calidad de plantas.* Valencia; Editorial UPV; 2006.
40. Perry L, Dickau R, Zarrillo S, Holst I, Pearsall D, Piperno D, et. al. Starch fossils and the domestication and dispersal of chili peppers (*Capsicum* spp. L.) in the Americas. *Science.* 2007 febrero 16; 315 : 986-988.
41. Govindarajan VS. *Capsicum*—production, technology, chemistry, and quality. Part II. Processed products, standards, world production and trade. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 1986; 23: 207–288.

42. Meghvansi MK, Siddiqui S, Khan MH, Gupta VK, Vairale MG, Gogoi HK, et al. Naga chilli: a potential source of capsaicinoids with broadspectrum ethnopharmacological applications. J Ethnopharmacol. 2010; 132: 1–14.
43. Byers T, Perry G. Dietary carotenes, vitamin C, and vitamin E as protective antioxidants in human cancers. Annu Rev Nutr. 1992; 12:139–59.
44. Machlin LJ. Critical assessment of the epidemiological data concerning the impact of antioxidant nutrients on cancer and cardiovascular disease. Cri Rev Food Sci Nutr. 1995; 35:41–50.
45. Kritchevsky SB.  $\beta$ -carotene, carotenoids and the prevention of coronary heart disease. J Nutr. 1999; 129:5–8.
46. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. 4 ed. Oxford: Clarendon Press; 2007.
47. Pickersgill B. The archeological record of chili peppers (*Capsicum* spp.) and the sequence of plant domestication in Peru. Amer. Antiquity. 1969; 34: 53-61.
48. Pickersgill B. Relationships between weedy and cultivated forms in some species of chili peppers (Genus *Capsicum*). Evolution. 1971; 25 (4): 683-691.
49. Eshbaugh W. A biosystematic and evolutionary study of *Capsicum baccatum* (solanaceae). Brittonia. 1970; 22: 31-43.
50. Sociedad Peruana de Gastronomía. Ajíes peruanos, sazón para el mundo. Lima: APEGA; 2009.
51. Amit Krishna De. Capsicum: The genus caspcicum. USA: Taylor & Francis; 2004
52. Weir G, Bonavia D, Coprolitos y dieta del precerámico tardío de la costa peruana. Bull. Inst. Fr. Etudes Andin (Perú). 1985; 14 (1-2): 85-140.



53. Duncan N, Pearsall D, Benfer A. Gourd and squash artifacts yield starch grains of feasting foods from preceramic Peru. *Proc Natl Acad Sci (U S A)*. 2009; 106(32):13202-13206.
54. Inca Garcilaso de La Vega. *Comentarios Reales de los Incas*. Lisboa; 1609
55. Sandweiss D, Moseley M, Haas J, Creamer W. Amplifying Importance of New Research in Peru. *Science*. 2001 November 23; 294(5547): 1651-1653.
56. Hervert-Hernandez D, Sayago-Ayerdi SG, Goni I. Bioactive compounds of four hot pepper varieties (*Capsicum annuum* L.): antioxidant capacity, and intestinal bioaccessibility. *J Agric Food Chem*. 2010; 58: 3399–3406.
57. Matsufuji H, Nakamura H, Chino M, Takeda M.. Antioxidant activity of capsanthin and the fatty acid esters in paprika (*Capsicum annuum*). *J Agric Food Chem*. 1998; 46: 3468–72.
58. Deli J, Molnar P, Matus Z, Toth G. Carotenoid composition in the fruits of red paprika (*Capsicum annuum* var. *lycopersiciforme rubrum*) during ripening; biosynthesis of carotenoids in red paprika. *J Agric Food Chem*. 2001; 49: 1517–1523.
59. Kirschbaum-Titze P, Hiepler C, Mueller-Seitz E, Petz M. Pungency in paprika (*Capsicum annuum*). Decrease of capsaicinoid content following cellular disruption. *J Agric Food Chem*. 2002; 50:1260–1263.
60. Rosa A, Delana M, Casu V, Paccagini S, Appendino G, Ballero M, et al. Antioxidant activity of capsinoids. *J Agric Food Chem*. 2002; 50: 7396–7401.
61. Ochi T, Takaishi Y, Kogure K, Yamauti I. Antioxidant activity of a new capsaicin derivative from *Capsicum annuum*. *J Nat Prod*. 2003; 66: 1094–1096.
62. Pino J, Gonzalez M, Ceballos L, Centurion-Yah AR, Trujillo-Aguirre J, Latournerie-Moreno L, et al. Characterization of total capsaicinoids, colour and volatile compounds of Habanero chilli pepper (*Capsicum chinense* Jack.) cultivars grown in Yucatan. *Food Chem*. 2007; 104: 1682–1686.

63. Howard LR, Talcott ST, Brenes CH, Villalon B. Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* species) as influenced by maturity. J Agric Food Chem. 2000; 48: 1713–1720.
64. Marin A, Ferreres F, Tomas-Barberan FA, Gil MI. Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). J Agric Food Chem. 2004; 52: 3861–3869.
65. Materska M, Perucka I. Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annuum* L.). J Agric Food Chem. 2005; 53: 1750–1756.
66. Nelson E, Dawson L. The constitution of capsaicin, the pungent principle of *Capsicum*. III. J. Am. Chem. Soc. 1923, 45: 2179–2181.
67. Cichewicz R, Thorpe P. The antimicrobial properties of chile peppers (*Capsicum* species) and their uses in Mayan medicine. J Ethnopharmacol. 1996; 52: 61-70
68. Urquiaga R, Leighton F. Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. Biol Res. 2000; 33: 55-64.
69. Scalbert A, Johnson IT, Saltmarsh M. Polyphenols: antioxidants and beyond. Am J Clin Nutr. 2005; 81(Suppl): S215-217.
70. Kaur C, Kapoor HC. Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health. J Food Sci Technol. 2001; 36: 703-725
71. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends Plant Sci. 1997; 4: 152-159.
72. Rauha JP, Remes S, Heinonen M, Hopia A, Kahkonen M, Kujala T, et al. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. Int J Food Microbio. 2000; 56: 3-12.
73. Proestos C, Chorianopoulos N, Nychas GJE, Komaitis M. RPHPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. J Agric Food Chem. 2005; 53: 1190-1195.

74. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature*. 2002; 420: 868–874.
75. Arroyo AG, Iruela-Arispe ML. Extracellular matrix, inflammation, and the angiogenic response. *Cardiol Res*. 2010; 86: 226–235.
76. Prieto JM, Yuste JR. *Balcells: La clínica y el laboratorio*. 21a ed. Barcelona: Elsevier Masson; 2010.
77. Goodman y Gilman. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 11a Ed. México: McGraw-Hill; 2007.
78. Reeves P, Nielsen F, Fahey G. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr*. 1993; 123: 1939-1951.
79. Benzie I, Strain J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Anal Biochem*. 1996; 239:70-76.
80. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*. 1999; 26(9–10):1231–1237.
81. Huang X, Tang J, Zhou Q, Lu H, Wu Y, Wu W. Polysaccharide from Fuzi (FPS) prevents hypercholesterolemia in rats. *Lipids in Health and Disease*. 2010; 9: 9.
82. Wroblewska M, Juskiewicz J, Wiczowski W. Physiological properties of beetroot crisps applied in standard and dyslipidaemic diets of rats. *Lipids in Health and Disease*. 2011; 10:178.
83. Yokogoshi H, Mochizuki H, Nanami K, Hida Y, Miyachi F, Oda H. Dietary taurine enhances cholesterol degradation and reduces serum and liver cholesterol concentrations in rats fed a high-cholesterol diet. *J. Nutr*. 1999; 129: 1705-1712.
84. National Research Council: *Guide for the care and use of laboratory animals*. 8<sup>th</sup> ed. Washington, DC: National Academy of Sciences; 2011.

85. Ferreira E, Silva M, Demonte A, Neves V. Soy  $\beta$ -Conglycinin (7S Globulin) Reduces Plasma and Liver Cholesterol in Rats Fed Hypercholesterolemic Diet. *J Medicinal Food* 2011, 14(1-2):94-100.
86. Duranti M, Lovati M, Dani V, Barbiroli A, Scarafoni A, Castiglioni S, et al. The  $\alpha'$  subunit from soybean 7S globulin lowers plasma lipids and upregulates liver  $\beta$ -VLDL receptors in rats fed a hypercholesterolemic diet. *J Nutr.* 2004; 134: 1334-1339.
87. Ghule B, Ghante M, Saoji A, Yeole P. Antihyperlipidemic effect of the methanolic extract from *Lagenaria siceraria* Stand. fruit in hyperlipidemic rats. *J Ethnopharmacol.* 2009; 124(2): 333-7.
88. Prasad A, Pratim D, Roy R, Pattanayak C, Panda P. Comparative study of ezetimibe and atorvastatin alone and in combination on lipid profile in rats. *Mater Sociomed.* 2013; 25(3): 192-195.
89. American Veterinary Medical Association. AVMA Guidelines on euthanasia [en línea]. EE.UU; 2007. [fecha de acceso 30 de mayo de 2012]. URL disponible en: [http://www.avma.org/issues/animal\\_welfare/euthanasia.pdf](http://www.avma.org/issues/animal_welfare/euthanasia.pdf)
90. Hung H, Merchant A, Willett W, Ascherio A, Rosner B, Rimm E, et al. The association between fruit and vegetable consumption and peripheral arterial disease. *Epidemiology.* 2003; 14:659-665.
91. Calixto J, Otuki M, Santos A. Anti-inflammatory compounds of plant origin. Part I. Action on arachidonic acid pathway, nitric oxide and nuclear factor kappa B (NF-kappa B). *Planta Med.* 2003; 69:973–983.
92. Surh Y. Anti-tumor promoting potential of selected spice ingredients with antioxidative and anti-inflammatory activities: a short review. *Food Chem Toxicol.* 2002; 40:1091–1097.
93. Spiller F, Alves M, Vieira S, Carvalho T, Leite CE, Lunardelli A, et al. Anti-inflammatory effects of red pepper (*Capsicum baccatum*) on carrageenan- and antigen-induced inflammation. *J Pharm Pharmacol.* 2008; 60(4):473-8.

94. Dänicke S, Böttcher W, Jeroch H, Thielebein J, Simon O. Replacement of soybean oil with tallow in rye-based diets without xylanase increases protein synthesis in small intestine of broilers. *J Nutr.* 2000; 130: 827-834.
95. Moundras C, Behr SR, Remesy C, Demigne C. Fecal losses of sterols and bile acids induced by feeding rats guar gum are due to greater pool size and liver bile acid secretion. *J Nutr.* 1997; 127:1068-1076.
96. Saito M, Yoneshiro T. Capsinoids and related food ingredients activating brown fat thermogenesis and reducing body fat in humans. *Curr Opin Lipidol.* 2013; 24(1): 71-7.
97. Kim N, Park S. Evaluation of green pepper (*Capsicum annuum* L.) juice on the weight gain and changes in lipid profile in C57BL/6 mice fed a high-fat diet. *J Sci Food Agric.* 2015; 95(1): 79-87.
98. Lewis S, Heaton K. Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time. *Scand J Gastroenterol.* 1997; 32(9):920-4.
99. Cummings JH. The effect of dietary fiber on fecal weight and composition. In *Dietary Fiber in Human Nutrition*. 2a Ed. EEUU: Boca Raton; 1993, 263–349.
100. Seitz HK, Czygan P, Simon B, Veith S. Different effects of dietary chenodeoxycholic acid and ursodeoxycholic acid on colonic adenylate cyclase in the rat. *Res Exp Med (Berl).* 1985; 185(1):57-61.
101. Kirwan WO, Smith AN, Mitchell WD, Falconer JD, Eastwood MA. Bile acids and colonic motility in the rabbit and the human. *Gut.* 1975; 16(11):894-902.
102. Bajor A, Gillberg PG, Abrahamsson H. Bile acids: short and long term effects in the intestine. *Scand J Gastroenterol.* 2010; 45(6):645-64.
103. Veiga P, Van Liew J, Zmolauski-Tucker M, Feld L. Dietary cholesterol supplementation in the spontaneously diabetic rat. *Life Sci.* 1995; 56(9):697–700.
104. Akiba T, Shibuta T, Amano Y, Okubo M, Asanuma A, Koga T, Tanaka M, Takimoto M. 28-day repeated oral toxicity study of a hypolipidemic agent, NK-104 in rats. *J Toxicol Sci.* 1998; 23(5): 701-11.

105. Posvar E, Radulovic L, Cilla D, Whitfield L, Sedman A. Tolerance and pharmacokinetics of single-dose atorvastatin, a potent inhibitor of HMG-CoA reductase, in healthy subjects. *J Clin Pharmacol.* 1996; 36(8): 728-31.
106. McGuire T, Dobesh P, Klepser D, Rupp M, Olsen K. Clinically important interaction between statin drugs and *Clostridium difficile* toxin? *Med Hypotheses.* 2009; 73(6): 1045-7.
107. Gressier L, Pruvost-Balland C, Dubertret L, Viguier M. Atorvastatin-induced drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms (DRESS). *Ann Dermatol Venereol.* 2009; 136(1): 50-3.
108. Oré R, Mayorca J, Valdivieso R, Ronceros G, Ráez E, Durand J, Huerta D. Efectos adversos de la maca y atorvastatina en hígado de ratas hipercolesterolémicas. *Rev Soc Quím Perú.* 2004; 70(1): 9-17.
109. Madani S, Lopez S, Blond J, Prost J, Belleville J. Highly purified soybean protein is not hypocholesterolemic in rats but stimulates cholesterol synthesis and excretion and reduces polyunsaturated fatty acid biosynthesis. *J Nutr.* 1998; 128(7):1084-91.
110. Fernandez M, Calle M. Revisiting dietary cholesterol recommendations: does the evidence support a limit of 300 mg/d? *Curr Atheroscler Rep.* 2010; 12(6):377-83.
111. Liang Y, Tian X, Chen J, Peng C, Ma K, Zuo Y, et al. Capsaicinoids lower plasma cholesterol and improve endothelial function in hamsters. *Eur J Nutr.* 2013; 52(1): 379-88.
112. Kwon M, Song Y, Choi M, Song Y. Red pepper attenuates cholesteryl ester transfer protein activity and atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Clin Chim Acta.* 2003; 332(1-2): 37-44.
113. Campillo J, Tormo M, Gómez-Encinas J, Campillo C, Viñas J, Borrás C, et al. Efecto antioxidante e hipolipemiente del pimentón ahumado en individuos sanos. *CyTA - Journal of Food.* 2010; 8(2): 151-158.
114. Ahuja K, Ball M. Effects of daily ingestion of chilli on serum lipoprotein oxidation in adult men and women. *Br J Nutr.* 2006; 96(2): 239-42.

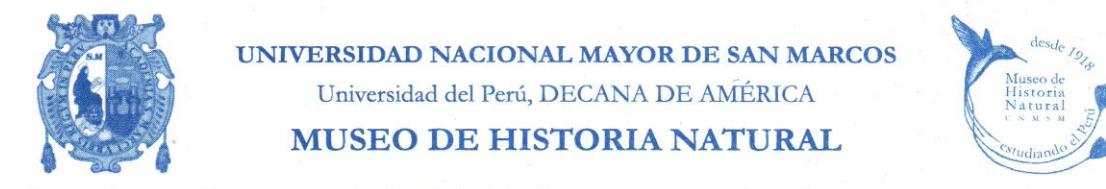
115. Lee C, Kim M, Yoon S, Lee C. Short-term control of capsaicin on blood and oxidative stress of rats in vivo. *Phytother Res.* 2003; 17(5):454-8.
116. Arroyo J, Raez E, Rodríguez M, Chumpitaz V, Burga J, De la Cruz W, et al. Reducción del colesterol y aumento de la capacidad antioxidante por el consumo crónico de maíz morado (*zea mays* l) en ratas hipercolesterolémicas. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2007; 24(2): 157-162.
117. Fungwe T, Cagen L, Wilcox H, Heimberg M. Regulation of hepatic secretion of very low density lipoprotein by dietary cholesterol. *J Lipid Res.* 1992; 33(2):179-91.
118. Vondrakova D, Ostadal P, Kruger A. Immediate effect of intensive atorvastatin therapy on lipid parameters in patients with acute coronary syndrome. *Lipids Health Dis.* 2010; 9: 71.
119. Nicholls S, Brandrup-Wognsen G, Palmer M, Barter P. Meta-analysis of comparative efficacy of increasing dose of Atorvastatin versus Rosuvastatin versus Simvastatin on lowering levels of atherogenic lipids (from VOYAGER). *Am J Cardiol.* 2010; 105(1): 69-76.
120. Devlin. *Bioquímica. Libro de texto con aplicaciones clínicas.* 4a Ed. España: Reverté; 2004.
121. Fungwe T, Cagen L, Cook G, Wilcox H, Heimberg M. Dietary cholesterol stimulates hepatic biosynthesis of triglyceride and reduces oxidation of fatty acids in the rat. *J Lipid Res.* 1993; 34(6): 933-41.
122. Triglyceride Coronary Disease Genetics Consortium and Emerging Risk Factors Collaboration, Sarwar N, Sandhu M, Ricketts S, Butterworth A, Di Angelantonio E, et al. Triglyceride-mediated pathways and coronary disease: collaborative analysis of 101 studies. *Lancet.* 2010; 375(9726): 1634-9.
123. Fagin D. Toxicology: The learning curve. *Nature.* 2012; 490(7421): 462-5.
124. Beausoleil C, Ormsby J, Gies A, Hass U, Heindel J, Holmer M, et al. Low dose effects and non-monotonic dose responses for endocrine active chemicals: science to practice workshop: workshop summary. *Chemosphere.* 2013; 93(6): 847-56.
125. Sharp P, Villano J. The laboratory rat. A volume in the laboratory animal pocket reference series. 2da Ed. EEUU: Taylor & Francis Group; 2013.

126. Powanda M, Wannemacher R, Cockerell G. Nitrogen metabolism and protein synthesis during pneumococcal sepsis in rats. *Infect Immun*. 1972; 6(3):266-71.
127. Little J. Synthesis, transport, and secretion of plasma proteins by the livers of control and *Streptococcus pneumoniae*-infected rats. *Infect Immun*. 1978; 22(2):585-96.
128. Kanki K, Nishikawa A, Furukawa F, Kitamura Y, Imazawa T, Umemura T, et al. A 13-week subchronic toxicity study of paprika color in F344 rats. *Food Chem Toxicol*. 2003; 41(10):1337-1343.
129. Yokozawa T, Cho E, Sasaki S, Satoh A, Okamoto T, Sei Y. The protective role of Chinese prescription Kangen-karyu extract on diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Biol Pharm Bull*. 2006; 29(4): 760-5.
130. Sun T, Xu Z, Wu C, Janes M, Prinyawiwatkul W, No H. Antioxidant activities of different colored sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.). *J Food Sci*. 2007; 72(2): S98-102.
131. Sezer E, Sozmen E, Nart D, Onat T. Effect of atorvastatin therapy on oxidant-antioxidant status and atherosclerotic plaque formation. *Vasc Health Risk Manag*. 2011; 7: 333–343.
132. Kumar V, Guruprasad B, Wahane V. Atorvastatin exhibits anti-inflammatory and anti-oxidant properties in adjuvant-induced monoarthritis. *Inflammopharmacology*. 2010; 18(6): 303-8.
133. Ghaisas M, Dandawate P, Zawar S, Ahire Y, Gandhi S. Antioxidant, antinociceptive and anti-inflammatory activities of atorvastatin and rosuvastatin in various experimental models. *Inflammopharmacology*. 2010; 18(4): 169-77.
134. López-Torres M, Barja G. Calorie restriction, oxidative stress and longevity. *Rev Esp Geriatr Gerontol*. 2008; 43(4): 252-60.
135. Meckelmann S, Riegel D, van Zonneveld M, Ríos L, Peña K, Ugas R, et al. Compositional characterization of native Peruvian chili peppers (*Capsicum* spp.). *J Agric Food Chem*. 2013; 61(10): 2530-7.



**ANEXOS:**

Figura 9. Constancia de identificación de las muestras de *Capsicum baccatum*. Perú, 2014.



"Año de la Promoción de la Industria Responsable y del Compromiso Climático"

**CONSTANCIA Nº 02-USM-2014**

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (Ají amarillo), recibida de **Ghuber LEANDRO MARTINEZ**; de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; ha sido estudiada y clasificada como: ***Capsicum baccatum* L.**; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1981):

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUB CLASE: ASTERIDAE**

**ORDEN: SOLANALES**

**FAMILIA: SOLANACEAE**

**GENERO: Capsicum**

**ESPECIE: *Capsicum baccatum* L.**

Nombre vulgar: "Ají Amarillo".

Determinado por: Mg. María Isabel La Torre.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Fecha, 09 de enero de 2014



Figura 10. Constancia de autorización de importación de las dietas experimentales. Lima, 2014.



**DIRECCION DE INSUMOS AGROPECUARIOS E INOCUIDAD  
AGROALIMENTARIA**  
**Sub-Dirección de Insumos Pecuarios**  
**AUTORIZACION DE IMPORTACION DE PRODUCTOS  
VETERINARIOS PARA USO PROPIO SIN FINES COMERCIALES**

**14-00018-AG-SENASA-DIAIA-SIP**

La Sub-Dirección de Insumos Pecuarios de la Dirección de Insumos Agrícolas e Inocuidad Agroalimentaria del servicio de Sanidad Agraria - SENASA, en cumplimiento de lo dispuesto en el Artículo 35° del "Reglamento de Registro, Control y Comercialización de Productos de Uso Veterinario y Alimento para Animales", aprobado mediante Decreto Supremo N° 015-98-AG, expide la presente autorización a:

Nombre y Apellidos del Solicitante:  
**GHUBER JHINES LEANDRO MARTINEZ**  
DNI: 43692958

**Para la importación del(los) siguiente(s) productos veterinarios(s) :**

Nombre Producto	Presentación	Unidad de Medida	Cantidad	N° Lote
DIETA PURIFICADA PARA ROEDORES AIN-93M	BOLSA X 5	Kg	1	2309 90 1050
DIETA PURIFICADA PARA ROEDORES AIN-93M MODIFICADA CON 1% DE COLESTEROL Y 0.5% DE ÁCIDO CÓLICO	BOLSA X 9	Kg	2	2309 90 1050

**País de Origen:** EEUU  
**País de Procedencia:** EEUU  
**Vía de Llegada:** OFICINA PUESTO DE CONTROL AEREO - PROV. CONST. DEL CALLAO



MINISTERIO DE AGRICULTURA Y RIEGO  
SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA  
DIRECCION DE INSUMOS AGROPECUARIOS  
E INOCUIDAD AGROALIMENTARIA  
  
  
**M.V. Raúl Príncipe Venegas**  
Director General (e)

**Figura 11. Fotografía donde se observa el proceso de filtración de la muestra mediante gasas estériles.**



**Figura 12. Fotografía donde se muestra el proceso de filtrado de la muestra.**



Figura 13. Fotografía que muestra el extracto seco de *Capsicum baccatum* L luego de la evaporación del solvente etanólico.



Figura 14. Fotografía que muestra el raspado del extracto seco de *Capsicum baccatum* L luego de la evaporación del solvente etanólico.

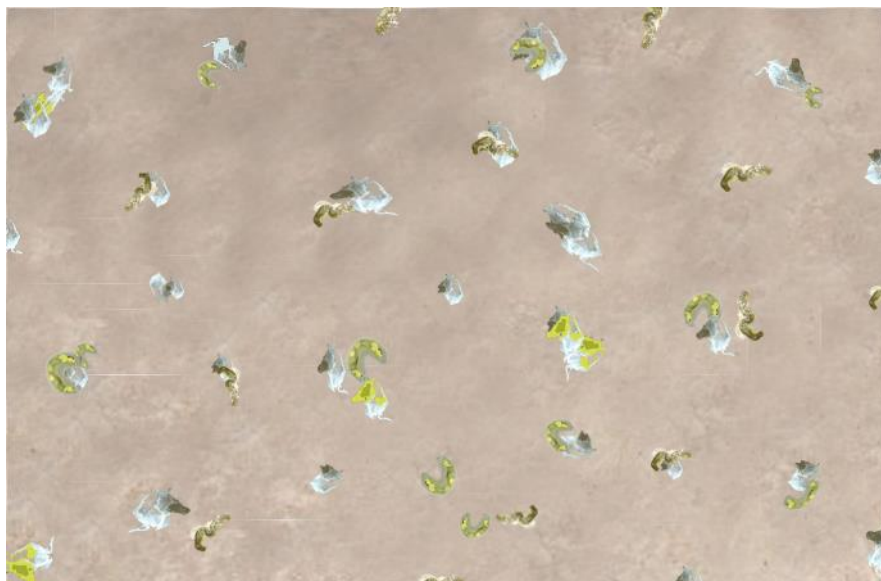











**Figura 15.** Fotografía donde se observa heces bien formadas de las ratas del grupo control.



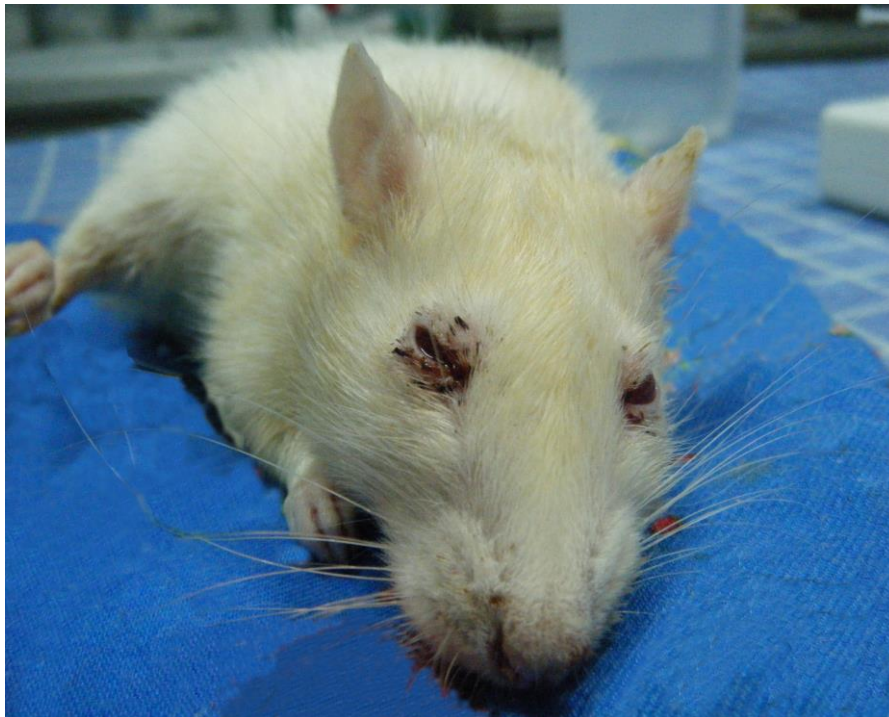
**Figura 16.** Fotografía donde se observan heces semilíquidas de las ratas de los grupos que recibieron dieta hipercolesterolémica.



**Figura 17. Escala de heces de Bristol diseñada para clasificar la forma de las heces.**

(+) GRÁFICO DE HECES DE BRISTOL		
TIPO 1		Trozos duros, separados, como nueces
TIPO 2		Con forma de salchicha, pero grumosa
TIPO 3		Con forma de salchicha, pero con grietas
TIPO 4		Con forma de salchicha, como serpiente lisa y suave
TIPO 5		Bolas suaves con bordes definidos
TIPO 6		Trozos suaves con los bordes desiguales
TIPO 7		Acuosa, sin trozos sólidos. Totalmente líquida
■ LOS TIPOS 4 Y 5 SON CONSIDERADOS NORMALES		

**Figura 18. Rata con un proceso infeccioso respiratorio. Se observa cromodacriorrea, que es la presencia de una sustancia de color rojizo (porfirina) en ojos y boca, la cual se produce en las glándulas de Harder de las ratas.**



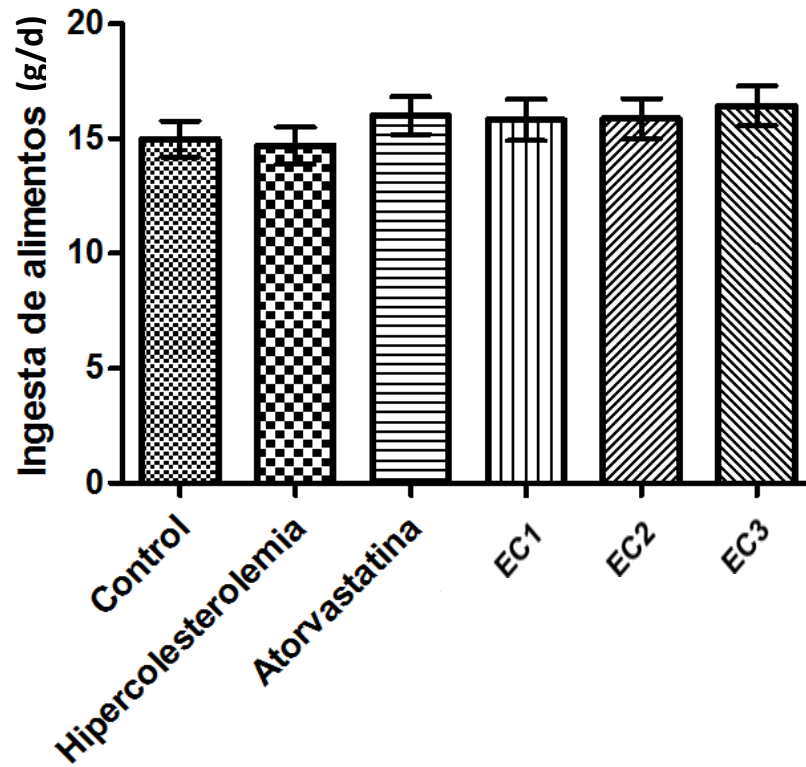


Figura 19. Comparación de las medias de ingesta de alimentos entre grupos de ratas Sprague Dawley alimentadas con dietas estándar y modificada (hipercolesterolémica) durante 21 días.

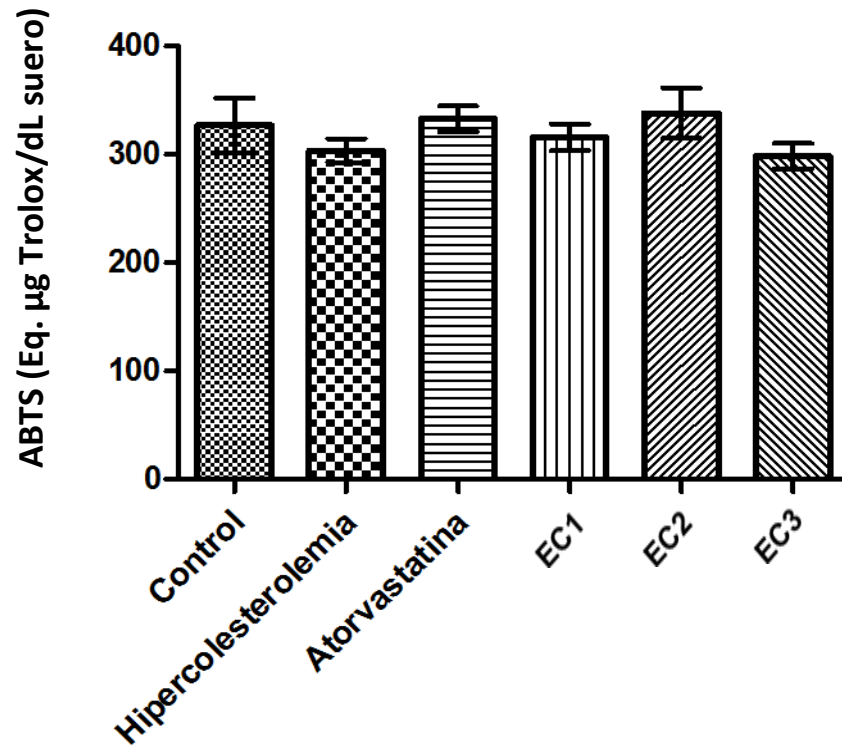


Figura 20. Comparación de las medias de capacidad antioxidante mediante ABTS entre grupos de ratas Sprague Dawley alimentadas con dietas estándar y modificada (hipercolesterolémica) durante 21 días. ABTS: ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico; Trolox: análogo de vitamina E.



Tabla 18. Operacionalización de la variable “efecto hipocolesterolémico”.

Variable	Definición conceptual	Definición Operacional	Indicadores	Definición	Tipo	Escala	Valores finales
Efecto hipocolesterolémico	Disminución de los niveles plasmáticos de colesterol total, colesterol LDL y triglicéridos, así como aumento de colesterol HDL en ratas hipercolesterolémicas inducidas por dieta.	Concentraciones plasmáticas de colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL y triglicéridos medidas al final del experimento.	Colesterol total	Lípido que interviene de forma esencial en la constitución de las membranas y en la síntesis de hormonas esteroideas. <sup>(76)</sup>	Cuantitativa	razón	Concentración plasmática en mg/dL de cada rata, calculada mediante método enzimático por espectrofotometría.
			Colesterol HDL	Colesterol transportado en plasma por lipoproteína de alta densidad (HDL) <sup>(76)</sup>	Cuantitativa	Razón	Concentración plasmática en mg/dL de cada rata, calculada mediante método enzimático por espectrofotometría.
			Colesterol LDL	Colesterol transportado en plasma por lipoproteína de baja densidad (LDL) <sup>(76)</sup>	Cuantitativa	Razón	Concentración plasmática en mg/dL de cada rata, calculada mediante método enzimático por espectrofotometría.
			Triglicéridos	Lípidos cuya función principal es transportar energía hasta los órganos de depósito <sup>(76)</sup>	Cuantitativa	Razón	Concentración plasmática en mg/dL de cada rata, calculada mediante método enzimático por espectrofotometría.

LDL: *low-density lipoprotein cholesterol*; HDL: *high-density lipoprotein cholesterol*.

**Tabla 19. Operacionalización de las variables.**

Variable	Definición conceptual	Definición Operacional	Tipo	Escala	Valores finales
Extracto hidroalcohólico de <i>Capsicum baccatum</i>	Extracto con etanol al 70% del fruto de <i>Capsicum baccatum</i> (caracterizado por ser alargado de color naranja-rojo de 9.5 cm x 1.8 cm <sup>(47)</sup> )	Dosis de extracto de <i>Capsicum baccatum</i> administrada en cada aplicación	Cuantitativa	razón	Cantidad en mg/kg de peso en cada aplicación.
Atorvastatina	Fármaco del grupo de las estatinas, inhibidor competitivo de 3-hidroxi-3-metilglutaril Coenzima A reductasa. <sup>(77)</sup>	Dosis de atorvastatina administrada en cada aplicación	Cuantitativa	razón	Cantidad en mg/kg de peso en cada aplicación.
Dieta estándar	Dieta purificada para roedores basada en las recomendaciones AIN-93 <sup>(a)(78)</sup>	Cantidad de dieta estándar consumida por día.	Cuantitativa	Razón	Cantidad diaria administrada por cada grupo de ratas.
Dieta modificada alta en colesterol (hipercolesterolémica)	Dieta purificada para roedores basada en las recomendaciones AIN-93 <sup>(a)(78)</sup> y modificada con colesterol y ácido cólico.	Cantidad de dieta alta en colesterol consumida por día.	Cuantitativa	Razón	Cantidad diaria administrada por cada grupo de ratas.
Índice de aterogenicidad	Herramienta clínico-práctica que predice riesgo cardiovascular. <sup>(1)</sup>	División entre (Colesterol total – HDL) / HDL	Cuantitativa	Razón	Resultado obtenido de la división entre (Colesterol total – HDL) y HDL.
Variación de peso	Cambio en el peso corporal de cada rata durante el experimento.	Diferencia entre el peso final y el peso inicial de cada rata.	Cuantitativa	Razón	Resultado de la diferencia del peso corporal final e inicial de cada rata.
Excreción fecal	Eliminación de los productos de desecho de la digestión del organismo.	Cantidad de heces eliminada por día.	Cuantitativa	Razón	Cantidad diaria de heces por cada grupo de ratas.
FRAP *	Método que mide el “poder antioxidante” o reductor de un fluido biológico. <sup>(79)</sup>	Medición sérica de la reducción de ion férrico a ferroso.	Cuantitativa	Razón	Resultado en Eq. $\mu\text{mol Vit. C/dL}$ calculado mediante espectrofotometría.
ABTS †	Método que mide la actividad antioxidante frente al catión radical ABTS <sup>+</sup> . <sup>(80)</sup>	Medición sérica por decoloración del catión radical ABTS <sup>+</sup>	Cuantitativa	Razón	Resultado en Eq. $\mu\text{g Trolox/dL}$ calculado mediante espectrofotometría.

a) American Institute of Nutrition; \* Ferric Reducing Ability of Plasma; † ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico.

